Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. IV. Mitteilung

Analyse der Orientierung röntgenstrahleninduzierter Quadrivalente bei Pales ferruginea

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie

der Eberhard - Karls - Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Hartwig Rohloff

aus Halberstadt

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0092

Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. IV. Mitteilung

Analyse der Orientierung röntgenstrahleninduzierter Quadrivalente bei Pales ferruginea

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie

der Eberhard - Karls - Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Hartwig Rohloff

aus Halberstadt

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung:	14. Mai 1970
Dekan:	Prof. Dr. W. Seyffert
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. H. Bauer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Seyffert

INHALT

		Seite
I	EINLEITUNG	4
II	MATERIAL UND METHODEN	6
III	ERGEBNISSE	7
A	Die Multivalentbildungen der Translokationsheterozygoten	7
B	Längenmessungen der Translokationsunterschiede an Mitosechromosomen	21
C	Messungen der Interkinetochorabstände an quadrivalenten Ketten	26
D	Die Anordnung der Multivalente in der Spindel	30
E	Die Verteilung der Multivalentchromosomen in der Anaphase	36
F	Die beobachteten Häufigkeiten der Multivalentanordnungen in der Spindel der Prometaphase und der Metaphase	44
	a. Multivalentanordnungen mit syntel orientierten Kinetochoren	44
	b. Multivalentanordnungen mit amphitel orientierten Kinetochoren	56
G	Die Umorientierung der Kinetochoren an den Quadrivalenten	58
H	Vergleich der gefundenen Häufigkeiten mit den Wahrscheinlichkeiten eines stochastischen Modells	64
I	Die Positionen der Kinetochoren an den Multivalenten	78
J	Modell zur quantitativen Beschreibung der Umorientierungsereignisse in der Prometaphase	86
K	Iterationsberechnungen zur Bestimmung der Umorientierungswahrscheinlichkeiten	94
IV	DISKUSSION	100
A	Die Umorientierung der Kinetochoren	100
B	Die Regulation der Chromosomenanordnung	102
C	Einflüsse auf die Umorientierungswahrscheinlichkeit	107
D	Zufallsmodelle	112
V	ZUSAMMENFASSUNG	117
VI	LITERATUR	119

I Einleitung

Die unabhängige Koorientierung der zu Bivalenten gepaarten homologen Chromosomen gilt als ein grundlegendes Prinzip der Meiose höherer Organismen, dessen allgemeine Verbreitung die Gültigkeit der freien Spaltung von Kopplungsgruppen gewährleistet. Dieses Prinzip der Koorientierung garantiert jedoch bei quadrivalenten Paarungsverbänden, die in der Meiose von translokationsheterozygoten Organismen gebildet werden, nicht generell die optimale Verteilung der Chromosomen. Denn nur, wenn sämtliche Kinetochoren des Quadrivalents durchweg alternierend koorientiert sind ('alternate orientation', McCLINTOCK, 1945) und der Paarungsverband sich in einer zickzackförmigen Anordnung in der Spindel der Metaphase I einstellt, erfolgt in der Anaphase genetisch richtige Verteilung des Chromosomenkomplements. Sind dagegen jeweils zwei benachbarte Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert, dann führt diese von McCLINTOCK als 'adjacent orientation' bezeichnete Anordnungsweise der Quadrivalente trotz Koorientierung jeweils zweier Kinetochoren bei der Chromosomenverteilung in der Anaphase zu Deletionen und Duplikationen des genetischen Materials. Bisher ist noch ungeklärt, durch welche Mechanismen sich die Quadrivalente in der Metaphase teils in der 'alternate orientation', teils in der 'adjacent orientation' einstellen und welche Faktoren dafür verantwortlich sind, daß bei verschiedenen Spezies und bei verschiedenen Mutanten einer Spezies unterschiedliche Anteile dieser beiden Anordnungen von Quadrivalenten in der Metaphase auftreten (s. die Forschungsberichte von BURNHAM, 1956; und JOHN a. LEWIS, 1965).

In der Anaphase werden die Chromosomen jeweils zu denjenigen Polen der Spindel transportiert, zu denen ihre Kinetochoren in der Metaphase durch die Verbindung mit einer Chromosomenfaser orientiert sind. Die Chromosomenfäsern lassen sich an lebenden Zellen polarisationsoptisch nachweisen (DIETZ, 1963, 1969; FORER, 1965; INOUÉ, 1953, 1964; INOUÉ a. BAJER, 1961). Nach den Untersuchungen der Chromosomenbewegung an lebenden Spermatocyten von Tipuliden und Melanoplus ist erkannt worden, daß das an fixiertem Material

bisher nur selten nachgewiesene Phänomen der Umorientierung von Kinetochoren (CLELAND, 1929; HUGHES-SCHRADER, 1943; INAMDAR, 1949; SYBENGA, 1968) in der Prometaphase kein sehr seltenes Ereignis ist. Die Metaphaseanordnung der univalenten und trivalenten Chromosomen wird nämlich erst nach mehrfachen Umorientierungen der Kinetochoren erreicht (BAUER, DIETZ u. RÖBBELEN, 1961; DIETZ, 1958, 1969; NICKLAS, 1961). BAUER, DIETZ und RÖBBELEN berichten, daß auch Bivalente zu Beginn der Spindelbildung gelegentlich mit beiden Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind und erst nach Umorientierung eines Kinetochors die bekannte Koorientierung einnehmen. Die Metaphaseanordnung der Chromosomen ist also keineswegs schon vom Beginn der Spindelbildung an definitiv festgelegt. Der vom Kinetochor induzierte Aufbau der Chromosomenfaser kann im ungestörten Ablauf der Prometaphase aus bisher unbekannter Ursache spontan unterbrochen werden; der Kinetochor induziert dann den Aufbau einer neuen Chromosomenfaser zum anderen Pol der Spindel. An Spermatocyten von Melanoplus und Gryllotalpa konnten Umorientierungen der Kinetochoren mit dem Mikromanipulator auch experimentell ausgelöst werden (NICKLAS, 1967; CAMENZIND a. NICKLAS, 1968).

Nach den Untersuchungen der Umorientierungen an den Univalenten, Bivalenten und Trivalenten konnte vermutet werden, daß eine Analyse der Quadrivalentorientierungen weitere Informationen über den prometaphasischen Umorientierungsprozeß gibt. Für die mit dieser Arbeit vorgelegte Analyse sind drei reziproke Translokationen ausgewählt worden, die sich vermutlich nur in einer Hinsicht, nämlich der Gestalt der quadrivalenten Ringe und Ketten, unterscheiden.

II. MATERIAL UND METHODEN

Zur Untersuchung sind drei translokationsheterozygote Mutationsstämme des Dipteren Pales ferruginea benutzt worden. P. ferruginea hat einen Chromosomensatz von 2n = 6A + XY. Eines der Autosomenpaare ist submediokinetisch und kann von den beiden anderen mediokinetischen Autosomenpaaren in mitotischen Teilungen unterschieden werden. Zur Analyse der Chromosomenbewegung bei verändertem Chromosomenbestand waren im Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. H. Bauer, an P. ferruginea durch Röntgenstrahlen Chromosomenmutationen induziert worden (Tätigkeitsbericht der Max-Planck-Gesellschaft, 1966). Von den dabei induzierten reziproken Translokationen sind für die hier vorgelegte Arbeit die 3 Stämme 177, 181 und 215 benutzt worden; diese 3 Mutationsstämme haben sich als Zuchtpopulationen erhalten.

Die Meiosepräparate wurden von Hoden aus Larven hergestellt, die sich etwa 6 - 8 Tage im IV. Larvenstadium befanden. Die Spermatogonien-Mitosen wurden in den letzten Tagen des III. Larvenstadiums gefunden. Die Hoden sind nach der Fixierung in Alkohol-Eisessig (AE) 1:3 mit Karmin-Essigsäure (KE) gefärbt, gequetscht und in Euparal eingedeckt worden. Beobachtet und photographiert wurde am Ortholux-Mikroskop (LEITZ) mit einem Phako-Immersionsobjektiv (90:1/A=1,15) und Periplan-Okularen (8x). Die zur Längenmessung der Chromosomen benutzten Photographien haben eine Vergrößerung von 1:2000. Zur Zählung der Chromosomenanordnungen wurden die Dauerpräparate im Raster abgesucht.

Die registrierten Häufigkeiten wurden mit statistischen Methoden analysiert, wobei die Berechnungen der statistischen Verfahren nach den Angaben von MATHER (1963, 1966) durchgeführt worden sind. Für die Analyse der Umorientierungen von Kinetochoren an den Quadrivalenten fanden methodische Ansätze aus den Gebieten der chemischen Reaktionskinetik (FROST u. PEARSON, 1964) und der Wahrscheinlichkeitstheorie (FELLER, 1957; TAKACS, 1962) Verwendung. Die Iterationsberechnungen sind mit dem Tischcomputer Olivetti-Programma-101 durchgeführt worden.

III. ERGEBNISSE

A Die Multivalentbildungen der Translokationsheterozygoten

In der Meiose der für eine reziproke Translokation heterozygoten Organismen bilden die von der Translokation betroffenen Chromosomen vorzugsweise multivalente Paarungsverbände. In der Prometa- und Metaphase sind die gepaarten Arme der Chromosomen durch mindestens ein weitgehend terminalisiertes Chiasma verbunden. Ob zwischen zwei Chromosomenarmen mehr als ein Chiasma angelegt war, kann an den Paarungsverbänden in diesem Stadium nicht sicher erkannt werden. Wenn bei der Homologenpaarung jeder Arm des einen Chromosoms mit je einem eines anderen gepaart ist, dann bilden die vier Chromosomen einen quadrivalenten Ring. Ist eine der Paarungen zwischen zwei Chromosomenarmen ausgefallen, dann bilden die vier Chromosomen eine quadrivalente Kette. Ist eine weitere Paarung ausgefallen und ist dieser zweite Paarungsausfall dem ersten benachbart, dann findet man neben dem Trivalent ein autosomales Univalent. Ist der zweite Paarungsausfall dem ersten nicht benachbart, dann liegen alle sechs Autosomen der Zelle als Bivalente vor. Ob die 'ausgefallenen' Armpaarungen vorher angelegt waren und erst später gelöst wurden, ist nicht speziell untersucht worden. Vom Beginn der Spindelbildung bis zum Beginn der Anaphase konnten jedoch keine Trennungen von Armpaarungen nachgewiesen werden (s.S.49 und Tab. 16). Abb. 1 zeigt einen quadrivalenten Ring, eine quadrivalente Kette und ein Trivalent mit autosomalem Univalent.

Wenn nur ein distaler Teil eines Chromosomenarmes translociert ist, dann besteht auch die Möglichkeit einer interstitiellen Chiasmabildung zwischen dem Translokationspunkt und dem Kinetochor. Diese Chiasmata können nicht über den Translokationspunkt hinweg terminalisiert werden (s. aber MARQUARDT, 1948). Derartige interstitielle Chiasmata sind

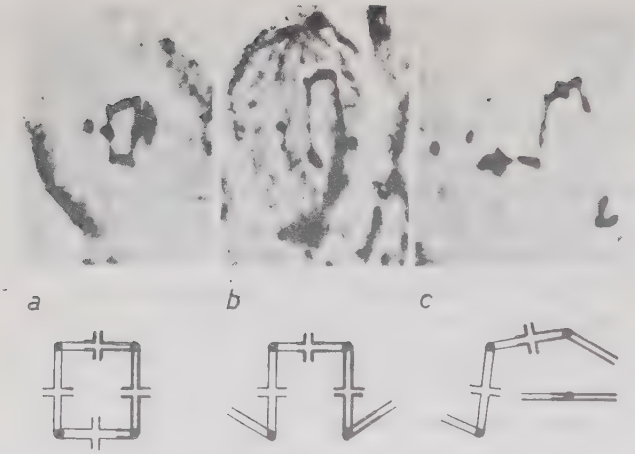

Abb. 1a - c. Multivalente Paarungsverbände in der Prometaphase I des Stammes 177. a Quadrivalenter Ring, b quadrivalente Kette, c Trivalent mit autosomalem Univalent. Vergrößerung 1:1500. Unterhalb der Photographien schematische Darstellung der Paarungsverhältnisse, homologe Chromosomen in gleicher Strichintensität.

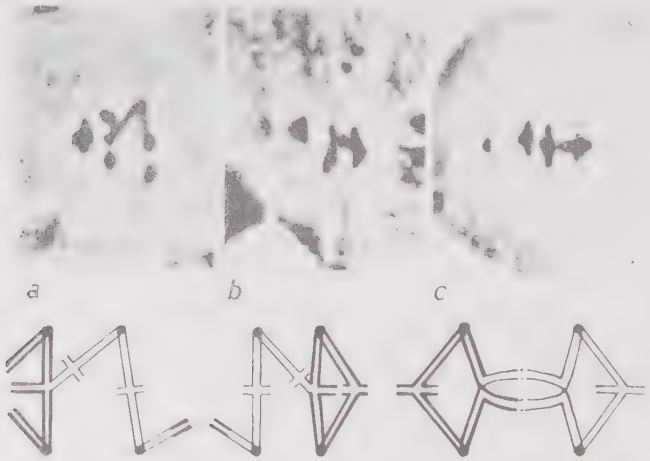

Abb. 2a - c. Beispiele von Multivalenten mit interstitiellen Chiasmata aus dem Stamm 215. Maßstab und Darstellungstechnik wie Abb. 1.

in dem untersuchten Material nur selten gefunden worden. Abb. 2 zeigt 3 Beispiele von Paarungsverbänden, in denen ein oder mehrere interstitielle Chiasmata ausgebildet sind.

Die Häufigkeiten der Paarungsverbände in fixierten Präparaten von Spermatozyten der Mutationsstämme zeigt die Tabelle 1. Es sind die Paarungsverbände derjenigen Zellen gezählt worden, die sich zwischen dem Beginn der Spindelbildung und dem Beginn der Anaphase befanden. Diese Grenzen sind an klaren Kriterien erkennbar. Der Beginn der Spindelbildung, der an lebenden Zellen am Aufbrechen der Kernmembran erkannt wird, ist an den fixierten Zellen daran zu erkennen, daß die Chromosomen, auch wenn sie sich zwischen den Astern noch nicht regulär parallel ausgerichtet haben, eine glatte Oberfläche besitzen; in der späten Diakinese dagegen erscheinen die bereits voll kontrahierten Chromosomen mit rauher Oberfläche. Der Zeitpunkt des Anaphasebeginns ist an der Trennung der Chromatiden erkennbar.

Die Anzahl der Armpaarungen, die den verschiedenen Paarungsverbänden zugrunde liegen, ist in der linken Randspalte der Tabelle 1 angegeben. Die Paarungsverbände treten innerhalb eines jeden Stammes mit unterschiedlicher Häufigkeit auf. Diese Häufigkeitsverteilungen der Paarungsverbände sind in den drei Stämmen voneinander verschieden. Dies läßt vermuten, daß ein quantitativer Unterschied in der Länge der translozierten Chromosomensegmente vorliegt. Dabei wird angenommen, daß die Wahrscheinlichkeit für die Bildung der Homologenpaarung an gleich langen Chromosomenabschnitten ungefähr gleich groß ist.

Dieser Unterschied zwischen den Stämmen läßt sich auf seine Signifikanz prüfen durch Berechnung eines χ^2-Testes auf Unabhängigkeit der Häufigkeiten in der Kontingenztafel. Die Kontingenztafel für diese χ^2-Berechnung zeigt die Tabelle 2. Bei dieser Aufstellung sind die Multivalente mit interstitiellen Chiasmata und die Fälle, in denen mehr als zwei Univalente gefunden wurden, nicht berücksichtigt worden.

Tabelle 1

Häufigkeiten der Paarungsverbände in den 3 Stämmen

Stämme		177		181		215	
Anzahl der Arm-Paarungen	Anzahl der Präparate	15		9		10	
	Häufigkeiten	n	%	n	%	n	%
	Paarungs-verbände:						
4	quadrivalente Ringe	859	41,3	633	26,9	1000	41,3
3	quadrivalente Ketten	796	38,3	1076	45,7	1180	48,7
2	Trivalente	235	11,3	353	15,0	63	2,6
2	Bivalente	99	4,8	197	8,4	161	6,6
0,1,2	2 und mehr Univalente	88	4,2	89	3,8	8	0,3
	Multival.mit interst.Chias.	2	0,1	6	0,3	12	0,5
Summe		2079		2354		2424	

Tabelle 2

Kontingenztafel zur Prüfung der Unabhängigkeit der Paarungsverbandshäufigkeiten vom Mutationsstamm

Stamm	Paarungsverbände				Σ
	Ringe	Ketten	Trival.	Bival.	
177	859 (745,127)	796 (912,572)	235 (194,654)	99 (136,647)	1989
181	633 (846,276)	1076 (1036,450)	353 (221,078)	197 (155,196)	2259
215	1000 (900,597)	1180 (1102,978)	63 (235,268)	161 (165,158)	2404
Σ	2492	3052	651	457	6652

$\chi^2 = \Sigma \frac{D^2}{E} = 338{,}861; \quad FG = 6; \quad P \ll 0{,}001.$

Mit einem χ^2 von 338,861 bei 6 Freiheitsgraden, entsprechend einem $P \ll 0{,}001$ besteht kein Grund für die Annahme einer in den drei Stämmen gleichen Verteilung der Paarungsverbandshäufigkeiten. Bevor eine für jeden Stamm charakteristische Verteilung angenommen und bevor ein Vergleich dieser Verteilungen zwischen den Stämmen durchgeführt werden kann, muß geklärt werden, ob die Häufigkeitsanteile der einzelnen Präparate, aus denen sich die Häufigkeiten der Paarungsverbände eines Stammes ergeben, untereinander mehr als zufällig verschieden sind. Zur Prüfung der Homogenität der Häufigkeitsverteilungen zwischen den Präparaten sind die χ^2-Werte in Kontingenztafeln berechnet worden. Die diesen Berechnungen zugrunde liegenden Häufigkeitszahlen sind in der Tabelle 3 mitgeteilt. Diese Berechnungen sind in gleicher Weise durchgeführt worden wie die Homogenitätsprüfung zwischen den Stämmen. (In den Kontingenztafeln für die Stämme 177 und 215 sind einige Erwartungswerte kleiner als 5; dadurch werden die χ^2-Werte dieser Tafeln jedoch nur geringfügig verändert.)

In der Tabelle 4 sind die χ^2-Werte für die Verteilungen zwischen den Präparaten dem Wert für die Verteilung zwischen den Stämmen gegenübergestellt. Für jede der vier Verteilungen ist eine hochsignifikante Abweichung gefunden worden. Aus dieser Gegenüberstellung ist ersichtlich, daß allein auf Grund der signifikanten Heterogenität zwischen den Stämmen nicht auf eine für jeden Stamm charakteristische Häufigkeitsverteilung der Paarungsverbände geschlossen werden kann. Denn es läßt sich hier nicht feststellen, ob und inwieweit der Unterschied zwischen den Häufigkeitsverteilungen der Stämme eine Folge der Heterogenität innerhalb der Stämme ist. Zur Klärung dieser Frage muß ein Heterogenitäts-χ^2 berechnet werden.

Für die Berechnung des Heterogenitäts-χ^2 wird eine Hypothese benötigt. Weil die Paarungsverbände in keiner bestimmten Häufigkeitsverteilung erwartet werden können, läßt sich

Tabelle 3

Die Häufigkeiten der Paarungsverbände in den Präparaten der 3 Stämme

Stamm	Präp.	Ringe	Ketten	Trival.	Bival.	Summe
177	1	23	53	16	22	114
	2	47	51	2	4	104
	3	12	63	111	12	198
	4	122	51	4	-	177
	5	98	43	-	2	143
	6	130	83	7	3	223
	7	38	126	52	32	248
	8	26	61	13	8	108
	9	40	50	10	6	106
	10	53	46	1	2	102
	11	26	60	14	1	101
	12	70	30	-	2	102
	13	74	26	-	2	102
	14	66	31	3	2	102
	15	34	22	2	1	59
	Summe	859	796	235	99	1989
181	1	114	210	61	34	419
	2	52	209	99	44	404
	3	70	124	38	25	257
	4	75	98	27	24	224
	5	72	66	17	4	159
	6	41	121	75	24	261
	7	84	61	11	14	170
	8	35	62	3	10	110
	9	90	125	22	18	255
	Summe	633	1076	353	197	2239
215	1	77	36	-	7	120
	2	28	54	3	9	94
	3	1	10	8	6	25
	4	93	266	8	40	409
	5	170	87	4	7	268
	6	126	404	29	67	626
	7	166	140	5	19	330
	8	49	23	-	1	73
	9	66	37	-	-	103
	10	222	123	6	5	356
	Summe	1000	1180	63	161	2404
Gesamtsumme		2492	3052	651	457	6652

Tabelle 4

Prüfung auf Unabhängigkeit der Paarungsverbandshäufigkeiten

	χ^2	FG	P
zwischen den Präparaten			
des Stammes 177	858,926	42	$\ll$0,001
des Stammes 181	204,904	24	$\ll$0,001
des Stammes 215	500,271	27	$\ll$0,001
zwischen den Stämmen	338,861	6	$\ll$0,001

keine Nullhypothese aufstellen, gegen die die Heterogenität der Häufigkeitsverteilungen von mehr als zwei Merkmalen gleichzeitig geprüft werden könnte. Zur Prüfung der Heterogenität der Häufigkeiten von nur zwei Merkmalen, für deren Verteilung keine Hypothese eine bestimmte Erwartung liefert, kann die von MATHER (1963) beschriebene Methode von BRANDT und SNEDECOR angewendet werden. Mit dieser Methode können die Häufigkeitsverteilungen von je zwei Paarungsverbänden aus den einzelnen Individuen auf ihre Heterogenität geprüft werden. Von den vier Paarungsverbandstypen werden dafür vier Vergleichspaare zusammengestellt, deren zu vergleichende Elemente sich durch das Ereignis einer Armpaarung voneinander unterscheiden: Der Vergleich (1) der Häufigkeiten zwischen den Ringen und den Ketten erlaubt die Beurteilung der Heterogenität des ersten Paarungsausfalls, der Vergleich (2) zwischen den Ketten und den Trivalenten die Beurteilung der Heterogenität des dem ersten benachbarten zweiten Paarungsausfalls, der Vergleich (3) zwischen den Ketten und den Bivalenten die Beurteilung der Heterogenität des dem ersten nicht benachbarten zweiten Paarungsausfalls, der Vergleich (4) zwischen den Trivalenten und den Bivalenten schließlich erlaubt die Beurteilung der Heterogenität der Häufigkeiten, mit denen der zweite Paarungsausfall dem ersten benachbart ist oder nicht. In der Klasse der Bivalente sind allerdings nicht alle Fälle erfaßt, bei denen zwei Paarungen ausgefallen sind und der zweite dem ersten nicht benachbart ist; wenn nämlich mehr als zwei Univalente vorliegen, ist im allgemeinen nicht erkennbar, ob die noch vorhandenen Bivalente zu den von der Translokation betroffenen Chromosomen gehören oder nicht. Das ist nur dann möglich, wenn am Bivalent der nichtmutierten Chromosomen beide Chromosomenarme gepaart sind.

Für die Häufigkeitsverteilungen dieser vier Merkmalspaare ist das Heterogenitäts-χ^2 berechnet worden. In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse dieser Berechnungen zusammengefaßt.

Tabelle 5

χ^2-Zerlegung zur Analyse der Heterogenität der Paarungsverbandshäufigkeiten. Berechnung des Heterogenitäts-χ^2 nach der Formel

$$\chi^2 = \frac{N^2}{A(N-A)} \not{S} \left(\frac{a^2}{n}\right) - \frac{(\not{S}\, a)^2}{\not{S}\, n}$$

In dieser Formel bedeutet a die Häufigkeit des einen Merkmals in einem Präparat, A die Summe dieser Häufigkeiten aus den Präparaten der 3 Stämme, n die Summe der Häufigkeiten beider Merkmale in einem Präparat und N die Gesamtsumme aus allen Stämmen.

		χ^2	FG	P
Ringe/Ketten	zwischen d. Präp.			
	177	238,2659	14	< 0,001
	181	83,6209	8	< 0,001
	215	320,6853	9	< 0,001
	zwisch. d. Stämmen	76,3047	2	< 0,001
	Gesamt	718,8769	33	< 0,001
Ketten/Trival.	zwischen d. Präp.			
	177	304,4138	14	< 0,001
	181	71,7027	8	< 0,001
	215	22,9347	9	< 0,01
	zwisch. d. Stämmen	203,6575	2	< 0,001
	Gesamt	602,7089	33	< 0,001
Ketten/Bival.	zwischen d. Präp.			
	177	57,2946	14	< 0,001
	181	11,3722	8	> 0,05
	215	27,6625	9	< 0,01
	zwisch. d. Stämmen	11,0226	2	< 0,01
	Gesamt	107,3520	33	< 0,001
Trival./Bival.	zwischen d. Präp.			
	177	58,3941	14	< 0,001
	181	27,1193	8	< 0,001
	215	14,2991	9	> 0,05
	zwisch. d. Stämmen	111,9643	2	< 0,001
	Gesamt	211,7769	33	< 0,001

Das Heterogenitäts-χ^2 ist für jeden der vier Häufigkeitsvergleiche in vier voneinander u n a b h ä n g i g e Anteile zerlegt worden: in die drei Anteile zwischen den Präparaten, die die Variabilität der Chromosomenpaarung zwischen den Individuen eines Stammes aufzeigen, und in den Anteil zwischen den Stämmen. Mit dieser χ^2-Zerlegung ist nachgewiesen, daß in den drei Mutationsstämmen die verschiedenen Paarungsverbände mit signifikant unterschiedlicher Häufigkeit gebildet werden.

Die χ^2-Zerlegung zeigt darüber hinaus, daß die Heterogenität zwischen den Individuen nicht überall ausgeprägt ist. Der Frage nach den möglichen Ursachen für diese Variabilität der Armpaarungen zwischen den Individuen eines Stammes ist nicht nachgegangen worden. Beim Häufigkeitsvergleich der Ketten und der Bivalente des Stammes 181 und beim Vergleich der Trivalente und Bivalente des Stammes 215 können die Daten jedoch als homogen angesehen werden. Ob es eine Bedeutung hat, daß bei diesen beiden Häufigkeitsvergleichen keine Variabilität zwischen den Präparaten vorliegt, ist unklar.

Trotz der Heterogenität der Häufigkeiten zwischen den Präparaten kann versucht werden, die einzelnen Stämme durch Vergleiche der Häufigkeiten ihrer Paarungsverbände zu charakterisieren. Die Unterschiede zwischen den Mutationsstämmen können darauf beruhen, daß entweder nicht immer die gleichen Autosomenpaare, von denen ein Paar submediokinetisch ist, von der Translokation betroffen sind, oder daß bei der reziproken Translokation verschieden lange Chromosomensegmente ausgetauscht worden sind. Aus einer Analyse der Häufigkeitsvergleiche der einzelnen Paarungsverbände läßt sich bestimmen, welche dieser Unterschiede in der Translokation, die in den signifikant unterschiedlichen Häufigkeitsverteilungen zum Ausdruck kommen, zwischen den drei Stämmen vorliegen.

Die Seltenheit der Multivalente mit interstitiellen Chiasmata kann 1. darauf beruhen, daß in den drei Stämmen der Translokationspunkt vom Kinetochor nicht weit entfernt ist, 2. daß die Chiasmabildung im proximalen Bereich dieser Chromosomen überhaupt selten ist, oder 3. daß durch eine positive Chiasmainterferenz die Chiasmabildung zwischen dem Translokationspunkt und dem Kinetochor reduziert ist, weil im translozierten Segment bereits ein Chiasma gebildet ist. Ein Unterschied zwischen den Stämmen in der Häufigkeit dieser Chromosomenaggregate besteht bei einem χ^2 von 7,629 bei zwei Freiheitsgraden mit einem $P < 0{,}05$. Es besteht somit Anlaß zu der Vermutung, daß an dem einen oder an beiden mutierten Chromosomen die Abstände zwischen dem Translokationspunkt und dem Kinetochor in den Stämmen 177 und 181 geringer sind als im Stamm 215 (vgl. Tab. 1).

Sofern die Wahrscheinlichkeiten zur Armpaarung an gleich langen Chromosomenbereichen gleich groß sind, ist zu erwarten, daß dann mehr Bivalente als Trivalente gebildet werden, wenn die Translokation zwischen den beiden mediokinetischen Autosomen oder zwischen dem kürzeren Arm des submediokinetischen und einem mediokinetischen Chromosom erfolgte; denn die von der Translokation veränderten Chromosomenstrecken liegen im quadrivalenten Ring einander gegenüber. Mehr Bivalente als Trivalente sind im Stamm 215 gefunden worden (vgl. Tab. 1). Die größere Häufigkeit der Trivalente im Vergleich zu den Bivalenten in den beiden Stämmen 177 und 181 zeigt dementsprechend an, daß in ihnen der längere Arm des submediokinetischen Autosoms an dem Austausch beteiligt ist. In diesen beiden Stämmen werden demnach die Frequenzen der Paarungsausfälle auch durch die Länge des kürzeren Arms am submediokinetischen Autosom mitbestimmt; damit stimmt überein, daß in diesen beiden Stämmen die Quadrivalente insgesamt nicht so häufig gefunden wurden wie im Stamm 215. Demnach wäre der Unterschied zwischen den beiden Stämmen 177 und 181, in denen gleiche

Chromosomenpaare von der Translokation betroffen sind, noch auf einen Längenunterschied der Translokationssegmente zurückzuführen. Offenbar wird durch die Länge des kürzeren der beiden translozierten Chromosomensegmente die Wahrscheinlichkeit für den ersten Paarungsausfall beeinflußt. Der Unterschied zwischen den Stämmen in der Länge dieses Segmentes läßt sich am Häufigkeitsverhältnis der Ketten zu den Ringen schätzen. Die Länge des reziprok translozierten Segmentes hat einen Einfluß auf die Wahrscheinlichkeit, mit der die zweite nicht benachbarte Paarung ausfällt. Der Unterschied zwischen den Stämmen in der Länge dieses Segmentes läßt sich am Häufigkeitsverhältnis der Bivalente zu den Ketten schätzen. Der Einfluß, den die Länge des kürzeren Arms am submediokinetischen Chromosom auf die Wahrscheinlichkeit des ersten oder zweiten Paarungsausfalls hat, ist in den beiden Stämmen gleich groß und kommt im Häufigkeitsverhältnis der Trivalente zu den Ketten zum Ausdruck. In der Tabelle 6 sind die Häufigkeitsverhältnisse der Ketten zu den Ringen und der Trivalente und Bivalente zu den Ketten der beiden Stämme 177 und 181 angegeben. Aus diesen Häufigkeitsverhältnissen kann man entnehmen, daß im Stamm 177 beide Translokationssegmente jeweils länger sind als im Stamm 181. Der Unterschied der beiden kürzeren Segmente ist nur gering. Im Stamm 181 haben die beiden reziprok translozierten Segmente eine größere Längendifferenz als im Stamm 177. Der am Häufigkeitsverhältnis der Trivalente zu den Ketten zum Ausdruck kommende Einfluß des submediokinetischen Chromosoms ist in beiden Stämmen gleich groß. Wegen der starken Heterogenität der Häufigkeiten zwischen den Präparaten muß darauf verzichtet werden, diese Schätzungen quantitativ zu präzisieren.

Das Pachytänstadium, das bei vielen Organismen die vollständige Paarung aller homologen Chromosomenbereiche zeigt und damit in Translokationsheterozygoten den genauen Translokationspunkt erkennen läßt, ist bei den Tipulidenspermatozyten für eine quantitative Analyse der Längen translo-

Tabelle 6

Häufigkeitsverhältnis der Ketten zu den Ringen und der Trivalente und Bivalente zu den Ketten der beiden Stämme 177 und 181

Stamm	Ketten/Ringe	Bivalente/Ketten	Trivalente/Ketten
177	0,9	0,1	0,3
181	1,7	0,2	0,3

Länge des längeren Segmentes	177 > 181
Länge des kürzeren Segmentes	177 > 181
Längenunterschied der reziprok translozierten Segmente	181 > 177

Tabelle 7

Messungen der Mitosechromosomen am Wildstamm

Chromosom	submediokinet.			mediokinet.		
Zahl der Messungen	40			80		
Chromosomenarme	l	k	l+k	a	b	a+b
$\bar{x}$	9,2	5,4	14,6	8,9	8,8	17,7
s	1,2	0,6	1,6	0,8	0,8	1,4
$s_{\bar{x}}$	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2
Armlängenverhältnis	1:0,6			1:1		

zierter Segmente nicht geeignet, weil bei diesem Objekt die Chromosomen dieses Stadiums nicht ausreichend deutlich erkennbar sind. Daher wurden zur Ergänzung der beiden bisher analysierten indirekten Informationen aus den Vergleichen der Paarungsverbandshäufigkeiten der Meiose die Chromosomen aus Spermatogonienmitosen daraufhin näher untersucht, inwieweit an ihnen erkennbar ist, in welchem Mutationsstamm das submediokinetische Autosom von der Translokation betroffen ist und ob an den Mitosechromosomen die Längenunterschiede der reziprok translozierten Segmente erkennbar und bestimmbar sind.

B Längenmessungen der Translokationsunterschiede an Mitosechromosomen

Die Abbildung 3 zeigt Metaphaseplatten von Spermatogonienmitosen aus dem Wildstamm von P. ferruginea. Das größere der beiden kleinen Heterochromosomen ist das X-, das kleinere das Y-Chromosom (ULLERICH, BAUER und DIETZ, 1964). Die Photographien der Abbildungen 3b und 3c zeigen Mitosen mit extremen Chromosomenlängen, wie sie gelegentlich gefunden werden. Weil der Kontraktionsgrad mitotischer Chromosomen derartig variabel ist, sind die für die Mitosechromosomen angegebenen Maßeinheiten Anteile von der Länge des gesamten autosomalen Genoms, 2A = 100. Die Längen der Autosomen nach Messungen an 20 Zellen sind in der Tabelle 7 angegeben. Das submediokinetische Autosomenpaar hat ein Armlängenverhältnis von ca. 1:0,6. Die beiden mediokinetischen Autosomenpaare sind nicht voneinander zu unterscheiden.

Die Abbildungen 4a-c zeigen Photographien je einer Metaphaseplatte der Spermatogonienmitosen aus den drei Mutationsstämmen 177, 181 und 215. Weil die homologen Chromosomen somatisch gepaart sind, kann an ihnen erkannt werden, an

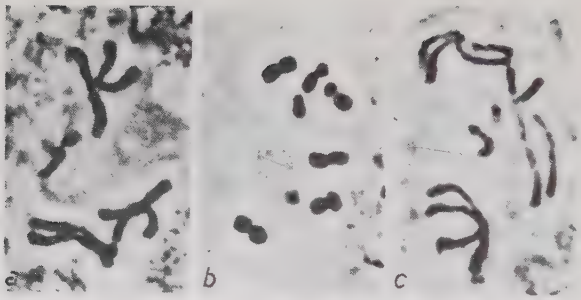

Abb. 3a - c. Metaphasechromosomen von Spermatogonienmitosen aus dem Wildstamm. Vergr. 1:1500. b und c zeigen extreme Chromosomenlängen, wie sie gelegentlich gefunden werden.

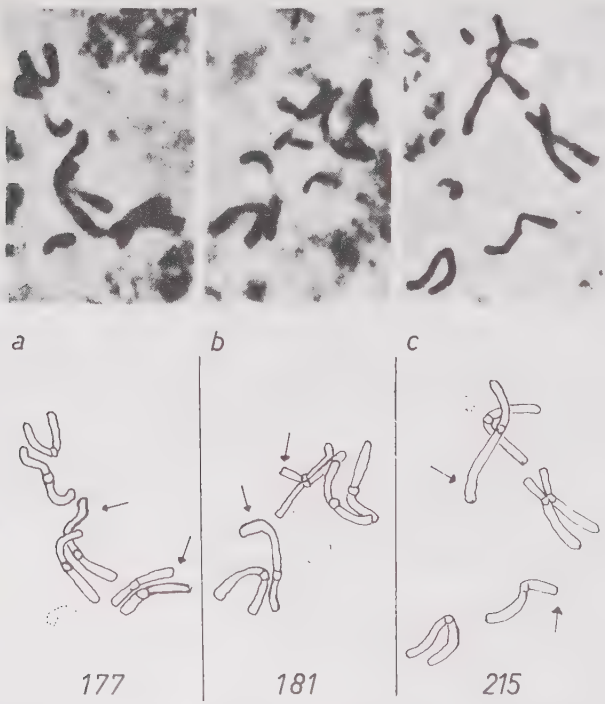

Abb. 4a - c. Metaphasechromosomen von Spermatogonienmitosen aus den 3 Mutationsstämmen. Vergr. 1:1500. Die Pfeile auf den Zeichnungen markieren die Chromosomenarme, deren Längen durch reziproke Translokation verändert ist.

welchen Autosomenpaaren die homologen Arme wegen unterschiedlicher Längen der reziprok translozierten Segmente verschieden lang sind. Mit den Zeichnungen zu den Photographien der Abbildung 4 wird auf die erkennbaren Längenunterschiede der homologen Chromosomenarme hingewiesen: Die kurzen Arme des submediokinetischen Chromosomenpaars sind in allen drei Mutationsstämmen in ihrer Länge unverändert. In den beiden Stämmen 177 (Abb. 4a) und 181 (Abb. 4b) kann jeweils am längeren Armpaar dieser Chromosomen eine Längendifferenz festgestellt werden, und zwar ist im Stamm 177 ein homologer Arm verkürzt und im Stamm 181 verlängert. An einem der mediokinetischen Chromosomenpaare findet man in diesen beiden Stämmen ebenfalls eine Veränderung; im Stamm 177 ist einer der Arme verlängert und im Stamm 181 einer verkürzt. An den Chromosomen des Stammes 215 (Abb. 4c) ist erkennbar, daß je zwei Armpaare der mediokinetischen Chromosomen von unterschiedlicher Länge sind.

In allen drei Stämmen sind also die translozierten Segmente von unterschiedlicher Länge. Im Stamm 215 hat der Stückaustausch zwischen zwei mediokinetischen Chromosomen stattgefunden. Eine Translokation zwischen dem langen Arm des submediokinetischen und einem mediokinetischen Chromosom hat im Stamm 177 den langen Arm an einem submediokinetischen Chromosom verkürzt und im Stamm 181 ist dieser Arm verlängert worden.

Zur Längenmessung an den mutierten Chromosomen wurden solche Metaphaseplatten aus den Präparaten ausgesucht, in denen die somatische Paarung der Chromosomen so deutlich ausgeprägt war, daß die Homologen eindeutig einander zugeordnet werden konnten, und in denen die beschriebenen Translokationsunterschiede an den Chromosomenpaaren direkt erkannt werden konnten. Das war nur in wenigen Zellen einiger Präparate der Fall. Weil die Präparate der Mitosen von Tieren aus polymorphen Mischpopulationen, in denen nur ein Teil der Individuen die Chromosomenmutation trägt, angefertigt

wurden, war auch nicht zu erwarten, daß sich in jedem Präparat solche Mitosen finden ließen, in denen die Auswirkung der Translokation erkannt werden konnte. Gemessen wurden die Armlängendifferenzen (d) homologer Chromosomenpaare an Photographien. Die Meßeinheit wurde auch hier wieder auf die Länge des gesamten autosomalen Genoms (2A = 100) bezogen. Die Ergebnisse der Messungen und die Vergleiche der Mittelwerte mit dem t-Test zeigt die Tabelle 8. Die Mittelwerte der Armlängendifferenzen, die in jedem der drei Stämme an den dafür verdächtigen Chromosomen gemessen wurden, weisen zwischen den Stämmen keine signifikanten Unterschiede auf.

Dem Unterschied zwischen den Mutationsstämmen, der in signifikant unterschiedlichen Häufigkeitsverteilungen der meiotischen Paarungsverbände zum Ausdruck kommt, scheinen also die folgenden Unterschiede in der Gestalt der von der Translokation betroffenen Chromosomen und Unterschiede in der Länge der translozierten Segmente zugrunde zu liegen:

1. Im Stamm 215 hat die Translokation zwischen den zwei mediokinetischen Chromosomenpaaren stattgefunden. Die reziprok translozierten Segmente sind nicht von gleicher Länge, so daß eines der mediokinetischen Chromosomen einen verlängerten Arm, ein anderes einen verkürzten Arm erhalten hat.

2. In den Stämmen 177 und 181 hat die Translokation zwischen dem langen Arm des submediokinetischen Chromosoms und einem der mediokinetischen Chromosomen stattgefunden. Auch in diesen beiden Stämmen sind die reziprok translozierten Segmente jeweils verschieden lang. Dadurch ist der lange Arm des einen submediokinetischen Chromosoms im Stamm 177 verkürzt, im Stamm 181 verlängert, und umgekehrt im Stamm 177 ein Arm des einen mediokinetischen Chromosoms verlängert und im Stamm 181 verkürzt worden.

3. Die Längendifferenzen der in jedem der drei Stämme reziprok translozierten Segmente weisen zwischen den Stämmen keinen bedeutsamen, an den Mitose-Chromosomen nachweisbaren

Tabelle 8

Messungen der Differenzen (d) homologer Chromosomenarmpaare an den Spermatogonienmitosen der 3 Mutationsstämme

Stämme	177	181	215	177/181	177/215	181/215
Zahl der Messungen	24	22	50			
$\bar{d}$	2,5	2,6	2,0			
s			1,2			
$s_{\bar{d}}$			0,2			
t				0,5148	1,8971	1,7931
FG				44	72	70
P				>0,05	>0,05	>0,05

Tabelle 9

Messungen der Interkinetochorabstände an quadrivalenten Ketten

Stämme	177	181	215	177/181	177/215	181/215
Zahl der Messungen	37	21	35			
$\bar{x}$	4,5 µ	5,0 µ	3,6 µ			
s	1,6	1,5	1,3			
$s_{\bar{x}}$	0,3	0,3	0,2			
t				1,079	2,842	3,782
FG				56	70	54
P				>0,05	<0,01	<0,001

Unterschied auf. Die sich aus der Analyse der meiotischen Paarungsverbandshäufigkeiten ergebende Vermutung, daß im Stamm 181 die beiden translozierten Segmente beide kürzer sind als im Stamm 177, aber von größerem Längenunterschied (s. S.19), konnte durch die Messungen an den Mitosechromosomen nicht bestätigt werden.

C Messungen der Interkinetochorabstände an quadrivalenten Ketten

An den sich in der Meiose bildenden Multivalenten sind einige Abstände zwischen zwei Kinetochoren in den drei Stämmen verschieden lang, weil die Längen der Interkinetochorabstände unter anderem auch davon abhängen, ob ein submediokinetisches Chromosom von der Translokation betroffen ist, und wie groß die Längendifferenz der translozierten Segmente ist. Eine Längendifferenz der translozierten Segmente führt zu einem um diese Differenz verkürzten Interkinetochorabstand und zu einem um diese Differenz verlängerten Abstand an dem im Ring gegenüberliegenden Bereich. Ist ein submediokinetisches Chromosom an der Multivalentbildung beteiligt, dann ist ein Interkinetochorabstand um die doppelte Differenz der ursprünglichen Armlängen reduziert.

Diese aus den Unterschieden in der Translokation resultierenden Unterschiede in der Gestalt der Multivalente sind an den Chromosomenverbänden der Prometa- und Metaphase nicht direkt durch eine Meßserie quantitativ nachweisbar. Die für eine solche Meßserie erforderliche Wiederholung der Messung gleicher Chromosomenstrecken an den Multivalenten verschiedener Zellen kann nur dann vorgenommen werden, wenn unmittelbar erkennbar ist, zwischen welchen Kinetochoren sich das durch die Translokation in seiner Länge veränderte Chromosomenstück, dessen Länge zwischen den Stämmen verglichen werden soll, befindet.

An den Zellen der Prometaphase ist eine quantitative Bestimmung der Interkinetochorabstände schwer möglich; denn es können die Interkinetochorabstände durch die Spindelkräfte über ein Vielfaches ihrer ursprünglichen Länge gestreckt werden. Die Streckung der Chromosomen geht zwar in der Metaphase weitgehend zurück; doch selbst in der Metaphase kann nicht eindeutig erkannt werden, ob das eine oder das andere Chromosomenstück durch die Spindelkräfte noch etwas verlängert ist, oder ob es eine größere Eigenlänge hat. Außerdem variiert die Gestalt der Multivalente auch mit dem Terminalisationsgrad der Chiasmata. Weil die Multivalente in verschiedener Weise in der Spindel angeordnet sein können (s. S. 31), ist die Aufstellung einer Meßserie bei den Ringen der Metaphase behindert, jedoch bei den Ketten in einer bestimmten Anordnung möglich. Die zwischen den Stämmen zu vergleichende Längendifferenz am Ring kann nämlich entweder zwischen zwei zum gleichen Pol oder zwischen zwei zum entgegengesetzten Pol orientierten Kinetochoren liegen, so daß nicht klar zu entscheiden ist, ob eine gemessene Strecke der einen oder der anderen Meßserie zuzuordnen ist.

Bei dem geöffneten Ring, der Kette, ist dies aber unter einer plausiblen und bei der Betrachtung der Paarungsverbandshäufigkeiten schon herangezogenen Voraussetzung möglich. Unter der Voraussetzung nämlich, daß das kürzere Translokationssegment die Wahrscheinlichkeit des ersten Paarungsausfalls mitbestimmt, kann geschlossen werden, daß in den Ketten zwischen den beiden mittleren Kinetochoren wahrscheinlich das durch die Translokation veränderte Chromosomenstück liegt. Wenn nun die beiden mittleren Kinetochoren der Kette zum gleichen Pol orientiert sind, wird das zwischen ihnen liegende, durch die Translokation verlängerte Chromosomenstück auch durch die Spindelkräfte der Prometaphase in seiner Länge nicht wesentlich beeinträchtigt. Aus diesen Gründen sind die Messungen zum quantitativen Nachweis der Translokationsunterschiede an der Gestalt der Multivalente

zwischen den drei Stämmen an den Ketten in dieser Anordnung vorgenommen worden. Ketten in dieser zur Messung geeigneten Anordnung in der Spindel zeigen die Abbildungen 1b und 6e.

Aus jedem der drei Stämme wurde diese Chromosomenstrecke an Photographien ausgesuchter Zellen, die sich möglichst in der späten Metaphase befanden, gemessen. In der Tabelle 9 sind die aus den Messungen erhaltenen Mittelwerte und die berechneten Streuungen angegeben. Zwischen den beiden Stämmen 177 und 181 läßt sich mit dem t-Test kein Unterschied feststellen. Der gemessene Interkinetochorabstand in diesen beiden Stämmen ist aber mit hoher Signifikanz größer als im Stamm 215. Weil in den beiden Stämmen 177 und 181 der lange Arm des submediokinetischen Chromosoms von der Translokation betroffen ist, kann an den Ketten der erste Paarungsausfall auch häufig am kurzen Arm dieses Chromosoms erfolgt sein. In diesen Fällen, die direkt nicht erkannt werden können, wäre ein normales, nicht verlängertes Chromosomenstück gemessen worden. Daher ist zu vermuten, daß der Unterschied zwischen diesen beiden Stämmen und dem Stamm 215 etwas größer ist als er nach dieser Meßserie erscheint.

Aus den Translokationsunterschieden, die bisher zwischen den drei Stämmen nachgewiesen wurden, können für die Gestalt der Ringe entsprechende Unterschiede erschlossen werden: weil im Stamm 215 die Translokation zwischen zwei mediokinetischen Chromosomen stattgefunden hat, und weil der Längenunterschied der reziprok translozierten Segmente in diesem Stamm vermutlich auch geringer ist als in den beiden Stämmen 177 und 181, sind die von den Chromosomenfasern nicht gestreckten Ringe im Stamm 215 symmetrischer gebaut als in den beiden anderen Stämmen. Die Abbildung 5 zeigt, welche Gestalt die quadrivalenten Ringe in den drei Mutationsstämmen vermutlich haben.

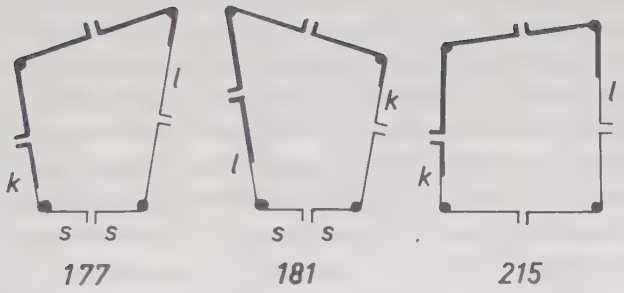

Abb. 5. Konstruktion der Gestalt des quadrivalenten Rings in den 3 Mutationsstämmen. s bezeichnet den kurzen Arm des submediokinetischen Chromosoms in den Stämmen 177 und 181, k den durch die Translokation verkürzten, l den verlängerten Chromosomenarm.

D Die Anordnung der Multivalente in der Spindel

Der Kinetochor eines Chromosoms wird durch eine kontraktile Faserverbindung zu einem Pol der Spindel orientiert. Mit 'Orientierung' wird also zunächst das im Phasenkontrastmikroskop zu beobachtende Phänomen der Ausrichtung eines Kinetochors auf einen Pol bezeichnet. Mit dieser Bezeichnung wird außerdem konstatiert, daß dieser Kinetochor mit einer im Polarisationsmikroskop nachweisbaren kontraktilen Faserstruktur mit dem Pol verbunden ist (DIETZ, 1963; FORER, 1965; INOUÉ, 1953), womit die Bewegungsrichtung während der Prometaphase und die prospektive Richtung des Chromosomentransportes in der Anaphase angezeigt ist. In der Spindel der Prometaphase und Metaphase können zwei in der Art verschiedene Orientierungen der Kinetochoren beobachtet werden, die von BAUER, DIETZ und RÖBBELEN (1961) als syntele und amphitele Orientierungen beschrieben wurden. In der als syntel bezeichneten Orientierung sind beide Chromatidkinetochoren zu einem der Spindelpole orientiert; in der als amphitel bezeichneten Orientierung sind die zwei Chromatidkinetochoren zu den Gegenpolen ausgerichtet. An Bivalenten wird allgemein die syntele Orientierung beobachtet, während an den Univalenten die Kinetochoren in der frühen Prometaphase zunächst syntel orientiert sind und in der Regel noch vor der Metaphase in die amphitele Orientierung übergehen. Sind die Kinetochoren bis zur Metaphase syntel orientiert, dann werden die Chromosomen im ersten Teil der Anaphase zu den Polen transportiert, zu denen sie syntel orientiert waren; haben sich die Kinetochoren in der Metaphase amphitel orientiert, dann verbleiben diese Chromosomen während der frühen Anaphase zunächst im Äquator der Spindel und erst in der späten Anaphase werden je zwei dieser Chromosomen durch einen anders ablaufenden Transportvorgang auf die beiden Pole verteilt.

An den Multivalenten wurde vorwiegend die syntele Orientierung der Kinetochoren beobachtet. Bei den Ringen wurden

drei verschiedene Anordnungen gefunden, die sich durch die syntele Orientierung ihrer Kinetochoren in der Spindel gebildet haben. Der Ring kann sich in der Spindel so einstellen, daß die Kinetochoren alternierend zu den emtgegengesetzten Polen orientiert sind, die Multivalentfigur also Tetraederform hat (Abb. 6a). Mit der Bezeichnung 'tetraederförmige Anordnung' soll betont werden, daß in der lebenden Zelle ein symmetrisch gebauter und nicht gestreckter Ring räumlich so angeordnet ist, daß sich die vier Kinetochoren an den Spitzen eines Tetraeders befinden und sich die Interkinetochorbereiche des Chromosomenverbandes nicht berühren und nicht behindern. Der Chromosomenverband ist zu einem ebenen Ring angeordnet, wenn je zwei benachbarte Kinetochoren zum gleichen Pol gerichtet sind (Abb. 6b). In einer dritten Anordnung des Rings ist einer der vier Kinetochoren zu einem Pol, die drei anderen sind zum Gegenpol orientiert (Abb. 6c); bei dieser Anordnung zeigt der Ring eine deltaförmige Gestalt.

Bei den Ketten wurden fünf verschiedenartige Anordnungen beobachtet, die sich durch syntele Orientierung ihrer Kinetochoren in der Spindel gebildet haben. Sind die vier Kinetochoren alternierend zu den beiden Polen orientiert, dann ist der Chromosomenverband als zickzackförmige Kette in der Spindel angeordnet (Abb. 6d). Bei einer weiteren Figur sind die beiden mittleren Kinetochoren der Kette zum gleichen Pol orientiert, die beiden anderen, an den Enden der Kette, zum Gegenpol gerichtet (Abb. 6e); in einer dritten Figur weisen je zwei benachbarte Kinetochoren zum gleichen Pol (Abb. 6f). An einer vierten Figur ist nur einer der beiden mittleren Kinetochoren zu dem einen Pol gerichtet, während die übrigen drei zum Gegenpol orientiert sind (Abb. 6g). In einer fünften Figur schließlich ist nur ein Kinetochor am Ende der Kette auf den einen Pol gerichtet, die drei anderen zum Gegenpol (Abb. 6h).

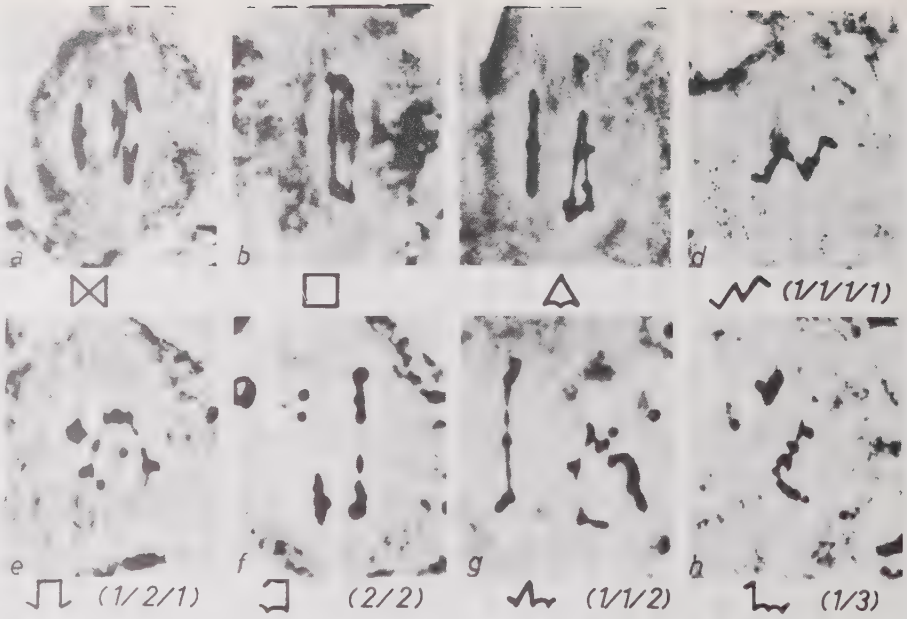

Abb. 6a - h. Anordnungen der Quadrivalente in der Spindel. a - c 3 Anordnungen der Ringe und d - h 5 Anordnungen der Ketten. Vergr. 1:1500. Unter den Photographien die Sigel und Ziffern, die zur Kennzeichnung dieser Anordnungen im Text und in den Tabellen verwendet werden.

Bei den Trivalenten mit synteler Orientierung ihrer Kinetochoren konnten zwei Anordnungen unterschieden werden: die V-förmige Figur, an der die drei Kinetochoren alternierend zu den beiden Polen der Spindel orientiert sind (Abb. 7a), und die stabförmige Anordnung, an der ein Kinetochor am Ende des Trivalents zu dem einen Pol, die beiden anderen, einander benachbarten, zu dem Gegenpol weisen (Abb. 7b).

Die hiermit beschriebenen Anordnungen der Chromosomenverbände in der Spindel werden im folgenden Text und in den Tabellen mit den Ziffern oder mit den Sigeln abgekürzt, die unter den photographischen Abbildungen 6 und 7 angegeben sind. Die denkbare Anordnung der Chromosomenverbände, daß alle Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind, ist weder bei den Ringen und Ketten noch bei den Trivalenten gefunden worden. Nur in insgesamt 5 Zellen aller 5 Stämme ist an einem Bivalent, dessen eine Armpaarung gelöst war, gefunden worden, daß in sehr früher Prometaphase beide Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert waren. Die Abbildung 6n zeigt eine derartige Anordnung eines Bivalents in einer frühen Prometaphasezelle.

Amphitele Orientierung von Kinetochoren an den Multivalenten ist relativ selten gefunden worden. Die Photographien der Abbildungen 8b und 8c zeigen als Beispiel ein Trivalent und eine quadrivalente Kette. Zum Vergleich zeigt die Abbildung 8a amphitel orientierte Univalente. In der Tabelle 10 sind die an den multivalenten Paarungsverbänden gefundenen Häufigkeiten dieser Orientierungsweise angegeben. Weil die geringen Anzahlen keine allgemeine Analyse dieser Häufigkeiten erlauben, sind nur Einzelvergleiche zwischen den Anzahlen, die zu einem Verdacht auf signifikanten Unterschied Anlaß gaben, durchgeführt worden. Eine Zusammenstellung der Daten zu diesen Einzelvergleichen gibt die Tabelle 11. Häufiger als an den Ringen ist die amphitele Orientierung an den Ketten und Trivalenten gefunden worden. Bei

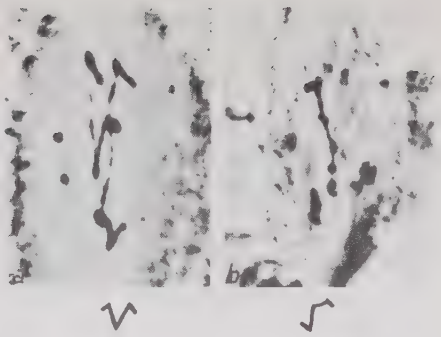

Abb. 7a u. b. Trivalentanordnungen in der Spindel mit den Sigeln, mit denen sie in den Tabellen gekennzeichnet werden.

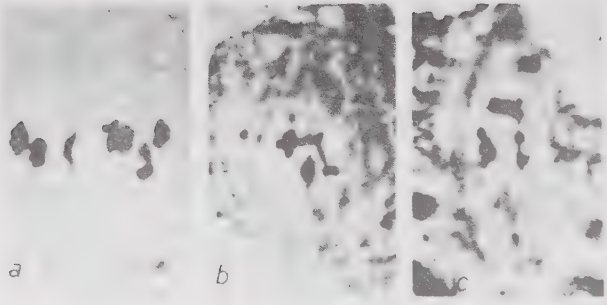

Abb. 8a - c. Beispiele von amphitel orientierten Kinetochoren an Autosomen. a an Univalenten des Stammes 101; b an einem Trivalent des Stammes 177; c an einer quadrivalenten Kette des Stammes 215.

Tabelle 10

Die Häufigkeiten amphiteler Orientierung von Kinetochoren an den Multivalenten

Stamm	177	181	215	Summe
Ringe	-	-	2	2
Ketten	5	7	25	37
Ketten, 1 terminal	3	5	12	20
Ketten, 1 median	-	1	1	2
Ketten, 2 (und mehr)	2	1	12	15
Trivalente	6	5	2	13
Summe	11	12	29	52

Tabelle 11

Vergleich der Häufigkeiten amphiteler Orientierung der Kinetochoren an Multivalenten

Vergleich der Häufigkeiten	beobachtetes Zahlenverhältnis	χ^2	P
Ringe/Ketten (aller Stämme)	$\frac{2 / 2490}{37 / 3015}$	25,1695	$<0,001$
Ringe/Trival. (aller Stämme)	$\frac{2 / 2490}{13 / 651}$	6,1464	$<0,05$
Ketten/Trival. (aller Stämme)	$\frac{37 / 3015}{13 / 651}$	2,2834	$>0,05$
Ringe/Ketten (in 215)	$\frac{2 / 998}{25 / 1155}$	16,2899	$<0,001$
Ketten 177/Ketten 215	$\frac{5 / 791}{25 / 1155}$	7,0629	$<0,01$
Ketten 181/Ketten 215	$\frac{7 / 1069}{25 / 1155}$	8,6746	$<0,01$
Ketten, terminal/median (aller Stämme)	20 : 2	14,7273	$<0,001$
Ketten, terminal/median (in 215)	12 : 1	9,3077	$<0,01$
alle 177/alle 215	$\frac{11 / 1881}{29 / 2226}$	5,3474	$>0,05$
alle 181/alle 215	$\frac{12 / 2068}{29 / 2226}$	5,8073	$<0,05$

den Trivalenten ist der Anteil amphitel orientierter Kinetochoren mit 2,0 % am größten; er nimmt über die Ketten (1,23 %) zu den Ringen (0,08 %) ab. Ein Unterschied zwischen den Ringen und Ketten läßt sich auch innerhalb des Stammes 215 nachweisen. In diesem Stamm ist die amphitele Orientierung etwas häufiger gefunden worden als in den beiden anderen Stämmen. An den Ketten hatte sich eine amphitele Orientierung häufiger an einem distalen Kinetochor als an einem der mittleren Kinetochoren gebildet. Dieser Unterschied besteht wiederum sowohl innerhalb des Stammes 215 als auch für die Summe aus allen drei Stämmen. Die häufigere Amphitelie der Orientierung an den Ketten im Stamm 215 als in den beiden anderen Stämmen ist deutlich nachweisbar. In einigen Fällen waren mehrere Kinetochoren eines Multivalentes amphitel orientiert; diese waren dann immer einander benachbart. Ob mehr als zwei Kinetochoren eines Multivalentes amphitel orientiert waren, konnte in den drei möglichen Fällen nicht sicher entschieden werden, da die Chromosomen dieser Zellen, dicht nebeneinander liegend, sich zum Teil überlagerten.

E Die Verteilung der Multivalentchromosomen in der Anaphase

Entscheidend für die Verteilung der Chromosomen in der Anaphase ist die Anordnung der Multivalente in der späten Metaphase. Die Abbildungen 9 und 10 zeigen schematisch, wie die Chromosomen in der Anaphase verteilt werden, wenn die Kinetochoren der am multivalenten Paarungsverband beteiligten Chromosomen syntel orientiert sind, und wenn das neben einem Trivalent vorliegende autosomale Univalent amphitel orientiert ist. Die Anaphase-Verteilung der amphitel orientierten Autosomen findet im zweiten Teil der Anaphase gemeinsam mit den amphitel orientierten Geschlechtsunivalenten statt (vgl. DIETZ, 1969).

Bei den Quadrivalenten, deren Kinetochoren alternierend zu den beiden Polen der Spindel orientiert sind, erfolgt in der Anaphase genetisch richtige Verteilung der Chromosomen (Abb. 9a). Für diese Quadrivalent-Anordnung führte McCLINTOCK (1945) die Bezeichnung 'alternate orientation' ein. Beide Tochterzellen erhalten, unabhängig davon, wie sich der Tetraeder in der Metaphasespindel eingestellt hat, und unabhängig davon, zwischen welchen Chromosomenarmen an der zickzackförmigen Kette die chiasmatische Paarung ausgefallen ist, einen haploiden Chromosomensatz mit vollständigem Chromosomenkomplement. In je eine der Tochterzellen gelangen dabei die beiden Chromosomen mit der reziproken Translokation.

Nach der Metaphaseanordnung des ebenen Ringes und der beiden Ketten (1/2/1) und (2/2) (Abb. 9) wandern zwar gleich viele Chromosomen zu den beiden Polen der Spindel, aber es erfolgt immer für zwei Chromosomensegmente Nondisjunktion. Diese drei Anordnungen entsprechen der 'adjacent orientation' McCLINTOCKs. Je nachdem, wie sich der ebene Ring in der Spindel der Metaphase eingeordnet hat, erfolgt im einen Fall Disjunktion für die homologen Kinetochoren und damit Nondisjunktion für die translozierten Segmente, und im anderen Fall Nondisjunktion für die homologen Kinetochoren und damit Disjunktion nur für die translozierten Segmente; von McCLINTOCK ist der erste Fall mit 'adjacent orientation I' und der zweite mit 'adjacent orientation II' bezeichnet worden. Auch bei den beiden Anordnungen der Kette (1/2/1) und (2/2) können eine 'adjacent orientation' I und II unterschieden werden.

Wenn an den durch die Translokation veränderten Chromosomenarmen die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von chiasmatischen Paarungen in Korrelation zur Länge der translozierten Chromosomensegmente herabgesetzt ist, wird nach der Metaphaseanordnung der Kette (1/2/1) in der Anaphase meist Disjunktion für die homologen Kinetochoren und Nondisjunktion

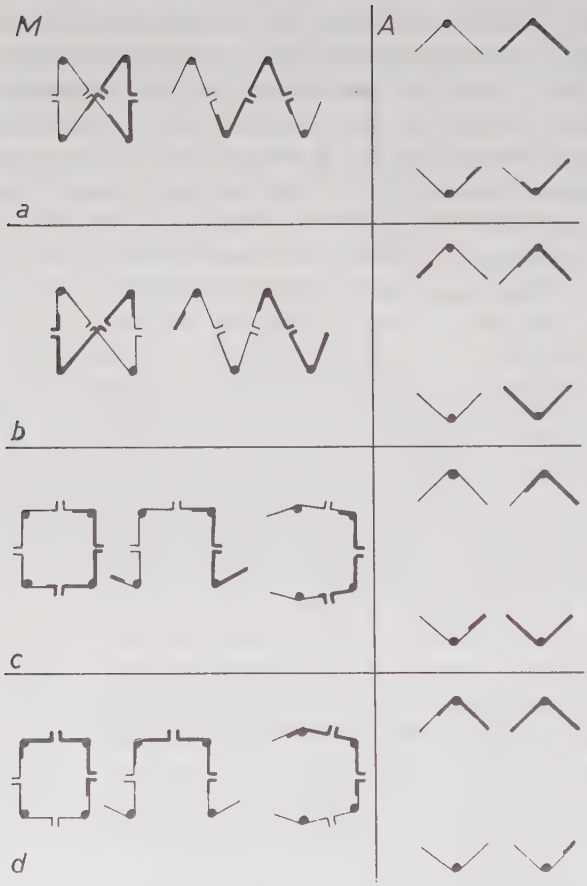

Abb. 9a - d. Disjunktion der Quadrivalentchromosomen. a und b zeigen die 2 möglichen Einstellungen alternierender Anordnung des Rings und der Kette in der Metapnase (M), die in der Anaphase (A) zu vollständiger Disjunktion führen. c Adjacent-I-Anordnung: in der Anaphase erfolgt Disjunktion fur die homologen Kinetochoren und Nondisjunktion für die translozierten Segmente. d Adjacent-II-Anordnung: Nondisjunktion fur die homologen Kinetochoren und Disjunktion nur für die translozierten Segmente.

für die translozierten Segmente erfolgen (Abb. 9c); nach der Metaphaseanordnung (2/2) erfolgt dann Nondisjunktion für die homologen Kinetochoren und Disjunktion nur für die translozierten Segmente (Abb. 9d). Für den ebenen Ring gibt es zwei Einstellungsmöglichkeiten, deren je eine Disjunktion oder Nondisjunktion für die homologen Kinetochoren und dementsprechend Nondisjunktion oder Disjunktion für translozierten Chromosomensegmente zur Folge hat (Abb. 9c,d). Nach einer Metaphase, in der das Multivalent in einer dieser drei Anordnungen vorliegt, gelangt in der Anaphase zu jedem Pol ein Chromosom mit einem translozierten Segment. Liegt in der Metaphase das Quadrivalent in der Anordnung des deltaförmigen Rings und der beiden Ketten (1/1/2) und (1/3) vor, dann erfolgt in der Anaphase chromosomale Fehlverteilung in vier verschiedenen Möglichkeiten, da jedes der vier Chromosomen allein zu einem Pol gelangen kann.

Für die Art der Anordnung der Trivalente in der Metaphase und die daraus resultierende Verteilung der Chromosomen in der folgenden Anaphase gibt es eine größere Zahl von Möglichkeiten. Von den V-förmigen Trivalenten gibt es zwei verschiedene Arten, die sich unabhängig davon, zwischen welchen Chromosomenarmen die chiasmatischen Paarungen ausgefallen sind, darin unterscheiden, daß entweder ein unmutiertes Chromosom des Komplexes oder eines mit einem translozierten Segment als Univalent vorliegt. Im einen Fall sind die beiden Chromosomen mit den translozierten Segmenten zum gleichen Pol orientiert und eines der unmutierten Chromosomen zum Gegenpol; das andere liegt dann als Univalent vor (Abb. 10a, b). Im anderen Fall hat das Univalent ebenso wie das mittlere Chromosom am Trivalent ein transloziertes Segment (Abb. 10c, d). Wird das autosomale Univalent im zweiten Teil der Anaphase zu dem Pol befördert, an dem sich bis dahin nur eines der Trivalentchromosomen befindet, dann erhält jeder Pol einen vollständig reduzierten Chromosomensatz (Abb. 10a, c). Diese Verteilung der Chromosomen ent-

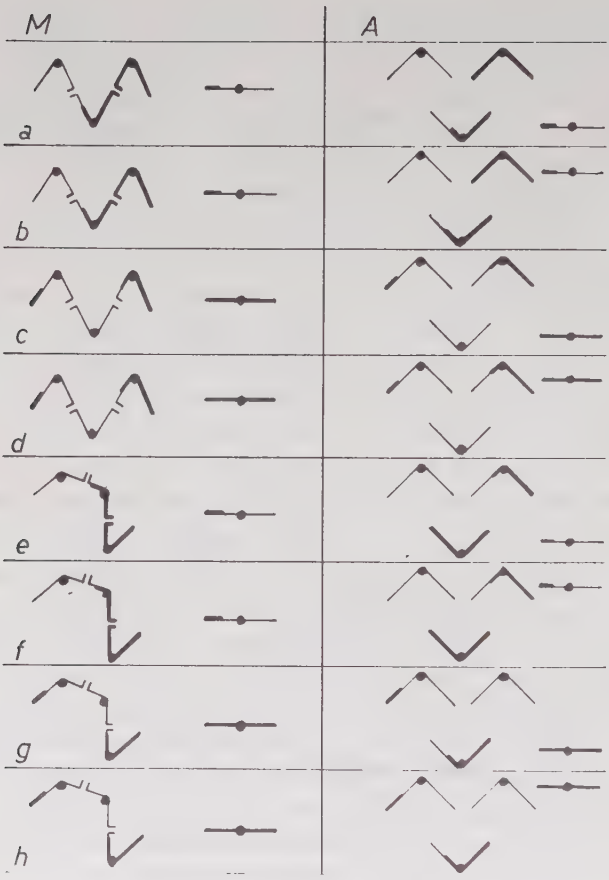

Abb. 10a - h. Disjunktion nach den 8 verschiedenen Trivalent- + Univalentanordnungen. In den Fällen a, c, e, g erfolgt in der Anaphase numerische Gleichverteilung der Chromosomen; a und c entsprechen der alternierenden Anordnung der Ringe und Ketten, e entspricht der Adjacent-I-Anordnung, g der Adjacent-II-Anordnung; in den Fällen b, d, f, h erfolgt in der Anaphase 1:3-Fehlverteilung der Chromosomen.

spricht derjenigen, die aus dem tetraederförmigen Ring und der zickzackförmigen Kette resultiert. Wird die aus dem trivalenten Paarungsverband resultierende autosomale Fehlverteilung im Verhältnis 2:1 vom nachwandernden autosomalen Univalent nicht korrigiert, sondern zu einer Fehlverteilung von 3:1 vergrößert, dann erhalten die Tochterzellen Chromosomenbesetzungen, die jenen entsprechen, die bei der Betrachtung der deltaförmigen Ringordnung und der quadrivalenten Ketten in der Anordnung (1/1/2) und (1/3) bereits besprochen wurden. So wie dort gibt es auch hier vier verschiedene Möglichkeiten, da jedes der vier Chromosomen allein zu einem Pol gelangen kann.

Beim stabförmigen Trivalent ergibt sich auch dann immer partielle Nondisjunktion, wenn das nachwandernde autosomale Univalent zu dem Pol gelangt, der bis dahin noch ein Chromosom zu wenig hatte. Ob in diesen Fällen disjunktionelle Verteilung der Chromosomen mit Ausnahme der translozierten Segmente oder nur für die translozierten Segmente erfolgt (Abb. 10e, g), hängt sowohl davon ab, welches der vier Chromosomen als Univalent vorliegt, als auch davon, welche der zwei möglichen Anordnungen diese vier verschiedenen stabförmigen Trivalente in der Metaphase einnehmen. Diese acht verschiedenen Anordnungen der stabförmigen Trivalente in der Metaphase bestimmen die Anaphase-Verteilung der Chromosomen. Sofern das nachwandernde autosomale Univalent die aus dem syntel orientierten trivalenten Paarungsverband resultierende Fehlverteilung wieder korrigiert, sind die Verteilungsergebnisse je zur Hälfte einander gleich: in der einen Hälfte der Fälle werden die Chromosomen mit Ausnahme ihrer translozierten Segmente, in der anderen Hälfte der Fälle werden nur die translozierten Segmente disjunktionell verteilt. Auch bei den stabförmigen Anordnungen der Trivalente gibt es vier verschiedene Möglichkeiten der chromosomalen Fehlverteilung, wenn das nachwandernde autosomale Univalent zu dem Pol gelangt, an dem sich schon zwei der Trivalent-

chromosomen befinden.

Die 10 Multivalentanordnungen, deren Kinetochoren syntel orientiert sind, lassen sich in drei Gruppen einteilen, die sich in der Chromosomenverteilung der folgenden Anaphase unterscheiden:

1. vollständige Reduktion; die Hälfte der Tochterzellen erhält beide Translokationschromosomen;

2. partielle Nondisjunktion: entweder Disjunktion für die homologen Kinetochoren und Nondisjunktion für die translozierten Segmente, oder Nondisjunktion für die homologen Kinetochoren und Disjunktion nur für die translozierten Segmente;

3. Chromosomenfehlverteilung: je die Hälfte der Tochterzellen erhält ein Chromosom zu viel, die andere Hälfte eines zu wenig.

Zur ersten Gruppe gehören sowohl der tetraederförmige Ring, die zickzackförmige Kette als auch das V-förmige Trivalent, sofern das nachwandernde autosomale Univalent die 2:1-Fehlverteilung vom syntel orientierten Trivalent zur vollständigen Reduktion korrigiert. Zur zweiten Gruppe gehören der ebene Ring, die beiden Anordnungen der Kette (1/2/1) und (2/2), die als geöffnete ebene Ringe angesehen werden können, sowie das stabförmige Trivalent, sofern die numerische Fehlverteilung vom nachwandernden autosomalen Univalent zu einer numerischen Gleichverteilung korrigiert wird. Die dritte Gruppe umfaßt den deltaförmigen Ring, die beiden Anordnungen der Ketten (1/2/1) und (1/3) sowie die beiden Trivalentanordnungen, sofern das nachwandernde autosomale Univalent die 2:1-Fehlverteilung der syntel orientierten Trivalentchromosomen zu einer 3:1-Fehlverteilung vergrößert.

Die Summe der Metaphasehäufigkeiten von Multivalentanordnungen der ersten Gruppe eignet sich zur Schätzung der Disjunktionsfrequenz und damit zur Beurteilung der Fertilität der translokationsheterozygoten Mutationsstämme. Die Tabel-

Tabelle 12

Schätzung der Disjunktionsfrequenzen aus den Metaphase-häufigkeiten der Multivalentanordnungen

A Quadrivalente

Stämme		181	177	215
alternierende Orientierung	n	273	340	422
	%	40,6	53,5	61,6
Abweichung von 50%	χ^2	23,6230	3,0440	36,9066
	P	$<0,001$	$>0,05$	$<0,001$
Homogenität zwischen den Stämmen	$\chi^2 = 60,6914$; FG = 2; P $<0,001$			

B Quadrivalente und Trivalente

Stämme		181	177	215
alternierende Orientierung	n	538	394	432
	%	50,3	61,9	63,1
Abweichung von 50%	χ^2	0,0238	36,3270	46,7752
	P	$>0,05$	$<0,001$	$<0,001$
Homogenität zwischen den Stämmen	$\chi^2 = 27,5962$; FG = 2; P $<0,001$			

le 12 zeigt, daß die geschätzte Disjunktionsfrequenz in der Reihenfolge der Stämme 181, 177, 215 zunimmt. Die Unterschiede zwischen den Mutationsstämmen sind signifikant. Diese Signifikanz ist unabhängig davon, ob die V-förmigen Trivalente für den Vergleich zwischen den Stämmen berücksichtigt werden oder nicht. Außerdem ist in der Tabelle 12 auch angegeben, ob die Disjunktionsfrequenz von 50 % abweicht oder nicht. Die Beantwortung der Frage, ob die Disjunktionsfrequenz in den beiden Stämmen 177 und 181 von 50 % abweicht, hängt davon ab, wieviele der V-förmigen Trivalente für diesen Vergleich berücksichtigt werden.

F Die beobachteten Häufigkeiten der Multivalentanordnungen in der Spindel der Prometaphase und der Metaphase

a. Multivalentanordnungen mit syntel orientierten Kinetochoren

Die zehn verschiedenen Anordnungen der drei typischen multivalenten Paarungsverbände werden in der folgenden Analyse vornehmlich betrachtet. Die Tabellen 13 bis 15 zeigen die Häufigkeiten, mit denen diese Anordnungen in der Spindel der Prometa- und Metaphase bei der systematischen Auszählung der Präparate gefunden wurden.

Obwohl es keine eindeutige Abgrenzung zwischen der Prometaphase und der Metaphase gibt, da die beiden Phasen kontinuierlich ineinander übergehen, kann eine Zuordnung doch einigermaßen sicher getroffen werden. In der Prometaphase sind die Chromosomen in einer schlanken, gestreckt erscheinenden Spindel angeordnet; sie sind den Spindelkräften der Prometaphase ausgesetzt und demzufolge gedehnt und oft lang ausgezogen; und bzw. oder sie sind deutlich aus dem Äquator der Spindel verlagert. Dabei können die Kinetochoren oder ein ganzes Chromosom einem der Pole sehr nahe kommen. Wenn

Tabelle 13

Die Häufigkeiten der Multivalentanordnungen in der Spindel

Stamm 177		Prometaphase		Metaphase		Gesamt	
Paarungs-verband	Anordnung	n	%	n	%	n	%
Ringe		245	42,0	183	66,5	428	49,8
		280	47,9	88	32,0	368	42,8
		59	10,1	4	1,5	63	7,3
Summe der Ringe		584		275		859	
Ketten		252	44,6	157	69,5	409	51,7
		174	30,8	50	22,1	224	28,3
		41	7,3	7	3,1	48	6,1
		86	15,2	12	5,3	98	12,4
		12	2,1	-	-	12	1,5
Summe der Ketten		565		226		791	
Trivalente		104	65,8	54	76,1	158	69,0
		54	34,2	17	23,9	71	31,0
Summe der Trivalente		158		71		229	
Gesamtsumme		1307		572		1879	

Tabelle 14

Die Häufigkeiten der Multivalentanordnungen in der Spindel

Stamm 181		Prometaphase		Metaphase		Gesamt	
Paarungs-verband	Anordnung	n	%	n	%	n	%
Ringe		135	31,0	96	48,5	231	36,5
		255	58,6	94	47,5	349	55,1
		45	10,3	8	4,0	53	8,4
Summe der Ringe		435		198		633	
Ketten		328	42,5	177	59,4	505	47,2
		221	28,7	75	25,2	296	27,7
		86	11,2	23	7,7	109	10,2
		101	13,1	20	6,7	121	11,3
		35	4,5	3	1,0	38	3,6
Summe der Ketten		771		298		1069	
Trivalente		147	56,8	65	73,0	212	60,9
		112	43,2	24	26,9	136	39,1
Summe der Trivalente		259		89		348	
Gesamtsumme		1465		585		2050	

Tabelle 15

Die Häufigkeiten der Multivalentanordnungen in der Spindel

Stamm 215		Prometaphase		Metaphase		Gesamt	
Paarungs-verband	Anordnung	n	%	n	%	n	%
		396	56,5	233	78,5	629	63,0
Ringe		234	33,4	61	20,5	295	29,6
		71	10,1	3	1,0	74	7,4
Summe der Ringe		701		297		998	
		348	40,8	189	62,0	537	46,4
		192	22,5	85	27,9	277	23,9
Ketten		135	15,7	16	5,2	151	13,0
		134	15,7	13	4,3	147	12,7
		44	5,2	2	0,7	46	4,0
Summe der Ketten		853		305		1158	
Trivalente		30	60,0	10	90,9	40	65,6
		20	40,0	1	9,1	21	34,4
Summe der Trivalente		50		11		61	
Gesamtsumme		1604		613		2217	

die Chromosomen in ihrer Form nicht gestreckt und annähernd in der Äquatorialplatte der Spindel angeordnet sind, und die Spindel selbst eine breite und gedrungene Form hat, wird die Zelle als eine Metaphasezelle angesehen; die Geschlechtschromosomen liegen dann gewöhnlich amphitel orientiert im Äquator der Spindel. In den Metaphasezellen, in denen sich nicht die gleiche Anzahl Kinetochoren zu den beiden Polen orientiert hatte, waren die Chromosomen selten genau im Äquator angeordnet.

In den Tabellen 13 bis 15 sind neben den absoluten Häufigkeitszahlen die prozentualen Häufigkeiten angegeben, mit denen die Anordnungen innerhalb der Gruppe eines Paarungsverbandes gefunden wurden. Diese relativen Häufigkeiten zeigen, daß die einzelnen Anordnungen eines Paarungsverbandes in der Spindel in sehr verschiedenen Anteilen auftreten. Die Unterschiede zwischen der Prometaphase und der Metaphase weisen außerdem daraufhin, daß sich die Wahrscheinlichkeiten für die einzelnen Anordnungen im Zeitverlauf von der mittleren Prometaphase zur Metaphase ändern, daß einige bestimmte Anordnungen in der Spindel häufiger und andere seltener werden. Diese Häufigkeitsveränderungen können dadurch erklärt werden, daß sich die Kinetochoren der Multivalente von einem Pol der Spindel auf den anderen umorientieren.

Das Ereignis der Umorientierung kann direkt nur durch Beobachtung an lebenden Zellen nachgewiesen werden, wie dies erstmals, gleichzeitig und unabhängig voneinander NICKLAS (1961) am Univalent von Melanoplus differentialis und BAUER, DIETZ und RÖBBELEN (1961) an Univalenten, Bivalenten und Trivalenten von YAT-Stämmen von Tipula oleracea getan haben. Bei der Bearbeitung fixierten Materials, wie sie an diesen drei Mutationsstämmen vorgenommen wurde, können Umorientierungen der Kinetochoren nur dann erkannt werden, wenn sich als Folge dieser Umorientierungen Änderungen in der Häufigkeit der Multivalentanordnungen ergeben. Umorientierungen der Kinetochoren können allerdings auch dann stattgefunden haben, wenn sich die Häufigkeitsanteile

nicht ändern und die einzelnen Anordnungen der Multivalente in der Metaphase alle mit einer im jeweils gleichen Verhältnis anderen Häufigkeit als in der Prometaphase auftreten. Signifikante Abweichungen von diesem Verhältnis jedoch m ü s s e n als Folge von Umorientierungen der Kinetochoren in der Spindel verstanden werden.

Die Häufigkeiten der Paarungsverbände wurden in den beiden Phasen in einem offensichtlich gleichbleibenden Verhältnis gefunden. Abweichungen von diesem Verhältnis wären dadurch zu erklären, daß im Verlauf der Zeit bis zur Metaphase Paarungen zwischen den Chromosomenarmen gelöst werden, oder daß die Zuordnung der beobachteten Zellen zu einer der beiden Teilungsphasen nicht in einheitlicher Weise und nicht immer nach den gleichen Kriterien vorgenommen wurde. Weil insgesamt mehr Prometaphasezellen als Metaphasezellen registriert wurden, nimmt die nach den genannten Kriterien gekennzeichnete Prometaphase eine längere Zeit in Anspruch als die Metaphase. In der kürzeren Metaphase werden für die Paarungsverbände im gleichen Verhältnis geringere Häufigkeiten erwartet. Ob Abweichungen von diesem Häufigkeitsverhältnis zwischen den drei Stämmen und innerhalb der Stämme zwischen den verschiedenen Paarungsverbänden vorliegen, kann mit einer Heterogenitätsanalyse beurteilt werden. Dafür wurde ein Heterogenitäts- χ^2 berechnet. Über das Ergebnis der Berechnung informiert die Tabelle 16. Zwischen den drei Mutationsstämmen und zwischen den Paarungsverbänden innerhalb der Stämme können die Variabilitäten der Häufigkeitsveränderungen als zufällig angesehen werden. Signifikante Heterogenität der Häufigkeitsveränderungen besteht nur innerhalb der Paarungsverbände. Mit dieser χ^2-Zerlegung ist nachgewiesen, daß die verschiedenen Multivalentanordnungen sich durch Umorientierungen der Kinetochoren von der mittleren Prometaphase bis zur Metaphase ineinander umordnen. Die Umorientierungen führen zu signifikanten Häufigkeitsveränderungen der Anordnungen bei den quadrivalenten Ringen und

Tabelle 16

Zerlegung des Heterogenitäts-χ^2 zur Analyse der Häufigkeitsveränderungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase. Zur Berechnung des χ^2 vgl. Tab. 5.

	χ^2	FG	P
Stamm 177			
innerhalb der Ringe	56,1025	2	<0,001
Ketten	45,5771	4	<0,001
Trivalente	2,5013	1	
zwischen den Paarungsverbänden	2,4203	2	
Stamm 181			
innerhalb der Ringe	21,8866	2	<0,001
Ketten	31,0382	4	<0,001
Trivalente	6,8420	1	<0,01
zwischen den Paarungsverbänden	4,0379	2	
Stamm 215			
innerhalb der Ringe	51,9827	2	<0,001
Ketten	74,1351	4	<0,001
Trivalente	2,7305	1	
zwischen den Paarungsverbänden	5,8381	2	
zwischen den Stämmen	3,9687	2	
Gesamt	309,1311	29	<0,001

Ketten und im Stamm 181 auch bei den Trivalenten.

Welche einzelnen Anordnungen durch die Umorientierungen der Kinetochoren signifikant häufiger oder seltener werden, kann nach der Berechnung eines Abweichungs- χ^2 erkannt werden. Über die Ergebnisse dieser Berechnungen informieren die Tabellen 17, 18 und 19. Die Häufigkeiten des tetraederförmigen Ringes und der zickzackförmigen Kette sind in der Metaphase aller drei Stämme hochsignifikant größer, als bei einer gleichbleibenden Häufigkeit der Anordnungen zu erwarten ist. Durch Umorientierungen von Kinetochoren werden also vor allem diese beiden Multivalentanordnungen häufiger. Sie entstehen im Verlauf der Zeit zwischen der mittleren Prometaphase und der Metaphase häufiger, als sie in eine andere Anordnung übergehen. Die drei Stämme zeigen deutliche Übereinstimmung in der Häufigkeitszunahme dieser beiden Multivalentanordnungen. Unterschiede zwischen den Stämmen bestehen darin, welche der anderen, selteneren und seltener werdenden Multivalentanordnungen zur Metaphase hin signifikant seltener werden.

Im Stamm 177 (s. Tab. 17) sind der ebene und der deltaförmige Ring und die Anordnung der Kette (1/1/2) bei einem $P < 0{,}001$ in der Metaphase seltener gefunden worden, als bei gleichbleibender Häufigkeit zu erwarten wäre. Begründeter Verdacht besteht für die Häufigkeitsabnahme der Anordnungen der Ketten (1/2/1), (2/2) und (1/3). Daß diese Anordnungen der Multivalente durch die Umorientierung eines ihrer Kinetochoren im Verlauf der späten Prometaphase zu einer anderen Figur werden, ist also häufiger der Fall, als sie aus einer anderen entstehen. Bei den Trivalenten dieses Stammes ist eine Häufigkeitsänderung ihrer Anordnungen nicht nachzuweisen. Das schließt Umorientierungen der Kinetochoren an den Trivalenten nicht aus. Mögliche Umorientierungen an den Trivalenten führen jedoch zu keiner signifikant anderen Häufigkeitsverteilung ihrer Anordnungen in der Metaphase.

Tabelle 17

Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Multivalentanordnungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase des Stammes 177. χ^2-Berechnung nach der Formel

$$\chi^2 = \frac{(a_1 - la_2)^2}{ln}$$

In dieser Formel bedeuten a_1 die Häufigkeit einer Anordnung der Prometaphase, a_2 die Häufigkeit dieser Anordnung in der Metaphase, n die Summe dieser beiden Häufigkeiten und l das Erwartungsverhältnis der zu vergleichenden Häufigkeiten.

Paarungsverband	Anordnung	χ^2	P	Abweichung
Ringe		22,6955	<0,001	+
		11,0958	<0,001	-
		19,0658	<0,001	-
Summe der Ringe		52,8571		
Ketten		19,3059	<0,001	+
		4,2875	<0,05	-
		4,6021	<0,05	-
		12,8000	<0,001	-
		4,8000	<0,05	-
Summe der Ketten		45,7955		
Trivalente		0,7436		
		1,6547		
Summe der Trivalente		2,3982		

Tabelle 18

Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Multivalentanordnungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase des Stammes 181. Zur Berechnung des χ^2 vgl. Tab. 17.

Paarungsverband	Anordnung	χ^2	P	Abweichung
Ringe		11,3541	<0,001	+
		3,0659		
		6,4591	<0,05	-
Summe der Ringe		20,8791		
Ketten		12,9234	<0,001	+
		0,9488		
		2,4889		
		7,7496	<0,01	-
		7,5463	<0,01	-
Summe der Ketten		31,6570		
Trivalente		2,8807		
		4,4905	<0,05	-
Summe der Trivalente		7,3712		

Tabelle 19

Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Multivalentanordnungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase des Stammes 215. Zur Berechnung des χ^2 vgl. Tab. 17.

Paarungsverband	Anordnung	χ^2	P	Abweichung
Ringe		15,9627	<0,001	+
		11,6394	<0,001	-
		23,3921	<0,001	-
Summe der Ringe		50,9942		
Ketten		21,7129	<0,001	+
		2,6984		
		19,2882	<0,001	-
		23,1906	<0,001	-
		11,4658	<0,001	-
Summe der Ketten		78,5339		
Trivalente		1,3136		
		2,5022		
Summe der Trivalente		3,8138		

Im Stamm 181 (s. Tab. 18) ist die Häufigkeitsabnahme der Ketten (1/1/2) und (1/3) signifikant; die Häufigkeitsabnahmen des deltaförmigen Ringes und des stabförmigen Trivalentes können bei einem $P < 0{,}05$ vermutet werden. Für die übrigen Multivalentanordnungen ist eine Häufigkeitsveränderung in diesem Stamm nicht nachweisbar.

Im Stamm 215 (s. Tab. 19) ergibt die Berechnung für den ebenen und den deltaförmigen Ring und für die Anordnungen der Ketten (2/2), (1/1/2) und (1/3) hochsignifikante Häufigkeitsabnahmen.

Eine hochsignifikante Häufigkeitsabnahme in allen drei Stämmen wurde nur bei der Kette (1/1/2) gefunden; für alle anderen Multivalentanordnungen findet eine Häufigkeitsabnahme in den drei Stämmen in unterschiedlich signifikantem Grade statt. Die geringsten Häufigkeitsveränderungen wurden bei den Trivalenten festgestellt. Bei den V-förmigen Trivalenten konnten keine Veränderungen, bei der alternativen Trivalentanordnung jedoch eine Häufigkeitsabnahme im Stamm 181 nachgewiesen werden. Die in der Metaphase seltener als erwartet gefundenen Anordnungen der Multivalente, von denen allgemein gesagt werden kann, daß sie sich häufiger durch die Umorientierung eines ihrer Kinetochoren in eine andere Figur umordnen, sind zwar in den drei Stämmen weitgehend die gleichen, aber nicht in jedem Stamm sind die gleichen Anordnungen mit der gleichen Signifikanz seltener gefunden worden. Weil beim χ^2-Verfahren die Größe der beobachteten Anzahl wesentlich berücksichtigt wird, sind bei den selteneren Anordnungen Häufigkeitsveränderungen nicht gut nachweisbar. Es besteht hier das Risiko zum Irrtum zweiter Art, wenn nämlich bei nicht nachweisbaren Häufigkeitsveränderungen auf eine gleichbleibende Wahrscheinlichkeit geschlossen wird. Für die Fälle, in denen keine Häufigkeitsveränderungen zwischen der mittleren Prometaphase und der Metaphase nachgewiesen werden können, gibt es drei Erklärungsmöglichkeiten:

1. Diese Multivalentanordnungen bleiben in ihrer einmal eingenommenen Anordnung erhalten, und es entstehen diese Anordnungen auch nicht durch Umorientierungen von Kinetochoren an anderen Figuren. Die Erklärungsmöglichkeit erscheint wenig plausibel, denn sicherlich finden Umorientierungen der Kinetochoren an den Multivalenten statt.
2. Die Umorientierungen der Kinetochoren dieser Anordnungen und diejenigen anderer Figuren, aus denen sie entstehen können, ereignen sich mit gleichen Wahrscheinlichkeiten.
3. Die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der Kinetochoren sind nicht gleich, aber bei den wenigen beobachteten Fällen lassen sich keine Unterschiede der Häufigkeitsveränderungen nachweisen.

Die Umorientierungen der Kinetochoren in der Spindel verändern also in allen drei Stämmen die Häufigkeitsanteile der einzelnen Multivalentanordnungen bis zur Metaphase dahingehend, daß diejenigen Anordnungen, deren Kinetochoren alternierend zu den beiden Spindelpolen orientiert sind, in allen drei Stämmen übereinstimmend in der Metaphase häufiger auftreten. Die Häufigkeiten einiger der anderen Anordnungen nehmen in größerem oder geringerem Grade ab. Die Häufigkeitsabnahme wird nicht in allen drei Stämmen an den gleichen Anordnungen in gleichem Ausmaß gefunden.

b. Multivalentanordnungen mit amphitel orientierten Kinetochoren.

Die Häufigkeiten, mit denen amphitel orientierte Kinetochoren an den Multivalenten in der Prometaphase und in der Metaphase gefunden wurden, zeigt die Tabelle 20. Amphitele Orientierung wurde durchweg häufiger in Metaphasezellen

Tabelle 20

Die Häufigkeiten der amphitel orientierten Kinetochoren an den Multivalenten in der Prometa- und der Metaphase

Stamm	177		181		215	
Phase	Prometa-	Meta-	Prometa-	Meta-	Prometa-	Meta-
Ringe	-	-	-	-	-	1
Ketten	-	5	-	7	5	17
Trivalente	1	5	1	4	1	1
Summe	1	10	1	11	7	19
χ^2	18,9940		23,4514		26,8205	
P	<0,001		<0,001		<0,001	

beobachtet als in Prometaphasezellen. Am Fuß der Tabelle 20 sind für diesen Häufigkeitsvergleich die Werte des Abweichungs- χ^2 (vgl. Tab. 17 - 19) und die dazugehörigen P-Werte angegeben.

Die in den drei Stämmen von der mittleren Prometaphase zur Metaphase zunehmende Häufigkeit der amphitelen Orientierung zeigt an, daß einzelne Kinetochoren an den Multivalenten im Verlauf der späten Prometaphase von der syntelen in die amphitele Orientierung übergehen.

G Die Umorientierung der Kinetochoren an den Quadrivalenten

Aus den Veränderungen der Häufigkeitsverteilungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase konnten zunächst die drei folgenden allgemeinen Aussagen abgeleitet werden:

1. Die Häufigkeitsveränderungen der einzelnen Quadrivalentanordnungen müssen als Folge von Umorientierungsprozessen der Kinetochoren verstanden werden.
2. Weil sich die Häufigkeitsverteilungen der Anordnungen in der Metaphase durch Umorientierungen von Kinetochoren aus der Verteilung der Prometaphase entwickelt haben, ist anzunehmen, daß zu Beginn der Spindelbildung die Häufigkeitsverteilungen andere waren als diejenigen, die für die mittlere Prometaphase registriert wurden.
3. Die Häufigkeitszunahme bestimmter Anordnungen und die Häufigkeitsabnahme bestimmter anderer Anordnungen zeigt, daß die Wahrscheinlichkeit für das Ereignis der Umorientierung von Kinetochoren in den verschiedenen Positionen an den Quadrivalentanordnungen verschieden groß ist.

Die Größe dieser Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung von Kinetochoren können nicht direkt aus den beobachteten Häufigkeitsveränderungen der Multivalentanordnungen geschätzt

werden. Die beobachtete Häufigkeit einer Anordnung ergibt sich nämlich 1. aus der Orientierungsstabilität ihrer Kinetochoren, 2. aus der Zahl der Entstehungsmöglichkeiten aus anderen Anordnungen und 3. aus den Häufigkeiten, mit denen die Anordnung auf den möglichen Wegen entsteht. Daher muß zunächst geklärt werden, welche Anordnungen durch die Umorientierung n u r e i n e s Kinetochors ineinander übergehen. Die Abbildungen 11 und 12 zeigen im Schema, welche Quadrivalentanordnungen durch die Umorientierung eines ihrer Kinetochoren ineinander umgestaltet werden können.

Bei der Betrachtung der Ringe (Abb. 11) müssen die folgenden Umgestaltungsmöglichkeiten beachtet werden: Der tetraederförmige und der ebene Ring können sich nicht direkt ineinander umformen. Aus jeder der beiden Anordnungen entsteht aber durch die Umorientierung jedes ihrer Kinetochoren der deltaförmige Ring. Aus dieser Anordnung entsteht durch die Umorientierung nur des mittleren der drei zum einen Pol gerichteten Kinetochoren die tetraederförmige Anordnung; die Umorientierung eines der beiden anderen zum gleichen Pol gerichteten Kinetochoren führt zur Anordnung des ebenen Rings. Eine vierte, denkbare Anordnung des Rings, bei der alle Kinetochoren zum gleichen Pol weisen, die, wie bereits erwähnt, nicht gefunden wurde, entsteht entweder nicht oder ist derart instabil, daß sie sich sehr schnell in die deltaförmige Anordnung umgestaltet.

Werden diese Umgestaltungsmöglichkeiten der Ringanordnungen beachtet, dann fällt bei der Betrachtung der Tabellen 13 - 15 auf, daß der deltaförmige Ring, zu dem die meisten Wege einer möglichen Entstehung führen, in allen drei Stämmen am seltensten gefunden wurde, und daß diese Anordnung in ihrer Häufigkeit auch deutlich abnimmt. Die tetraederförmige Anordnung des Rings, die durch die Umorientierung nur eines der vier Kinetochoren der selten gefundenen deltaförmigen Ringfigur entstehen kann, wird dagegen in der Metaphase aller drei Stämme deutlich häufiger gefunden.

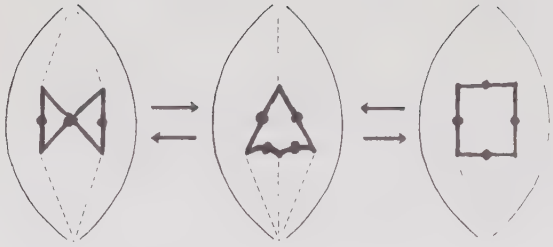

Abb. 11. Schematische Darstellung der Umgestaltungsmöglichkeiten der 3 Ringanordnungen durch Umorientierung eines Kinetochors.

Eine kinetische Betrachtung der Umgestaltungsmöglichkeiten der Ringanordnungen (s. Abb. 11) und der beobachteten signifikanten Häufigkeitsveränderungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase (s. Tab. 17 - 19) führt zu folgenden Aussagen: 1. Die Wahrscheinlichkeit zur Umgestaltung der deltaförmigen Anordnung in die tetraederförmige Anordnung ist erheblich größer als die zur Umgestaltung der tetraederförmigen in die deltaförmige Anordnung, bzw. das Verhältnis dieser beiden Wahrscheinlichkeiten ist erheblich größer als 1. 2. Die Wahrscheinlichkeit zur Umgestaltung der deltaförmigen Anordnung in den ebenen Ring ist größer oder mindestens so groß wie die zur Umgestaltung des ebenen Rings in die deltaförmige Anordnung, bzw. das Verhältnis dieser beiden Wahrscheinlichkeiten ist größer oder mindestens gleich 1. 3. Das Verhältnis der beiden ersteren Wahrscheinlichkeiten ist in jedem Fall größer als das der beiden letzteren.

Wenn die vier Kinetochoren am tetraederförmigen und am ebenen Ring eine jeweils gleiche Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung haben, dann ist auch ein entsprechender Vergleich der Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung einzelner Kinetochoren möglich. Ob diese Annahme zutrifft, kann bisher noch nicht beurteilt werden. Es kann jedoch etwas ausgesagt werden über die Größenverhältnisse der Summen einiger Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung von Kinetochoren: die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung des mittleren der drei zum gleichen Pol gerichteten Kinetochoren am deltaförmigen Ring ist erheblich größer als die Summe der Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der vier Kinetochoren am tetraederförmigen Ring; und die Summe der Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der beiden anderen zum gleichen Pol gerichteten Kinetochoren am deltaförmigen Ring ist größer oder mindestens ebenso groß wie die Summe der Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der vier Kinetochoren am ebenen Ring.

Auch bei der Betrachtung der Ketten (s. Abb. 12) muß bedacht werden, daß nicht aus jeder Anordnung durch die Um-

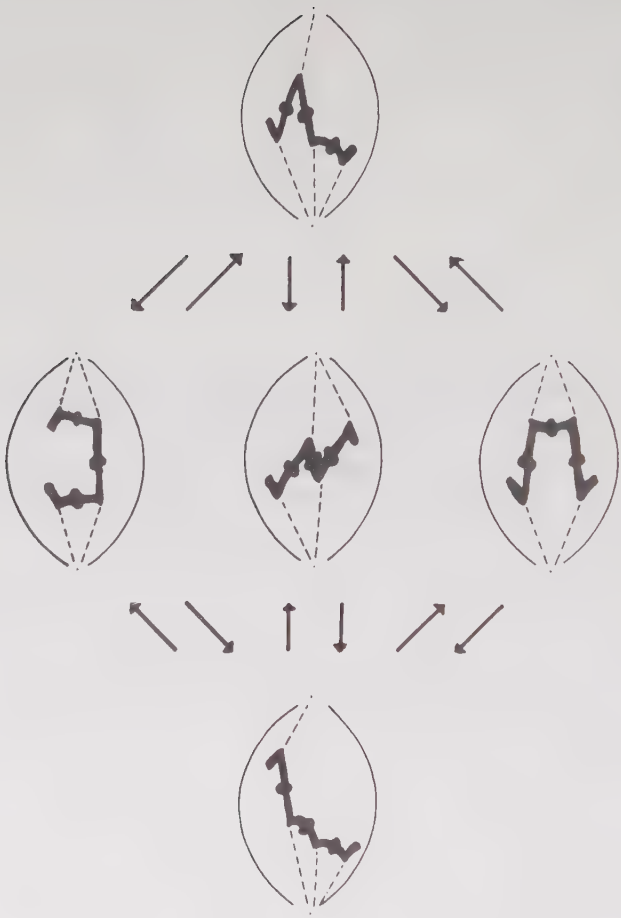

Abb. 12. Schematische Darstellung der Umgestaltungsmöglichkeiten der 5 Kettenanordnungen durch Umorientierung eines Kinetochors.

orientierung nur eines Kinetochors jede andere Anordnung entstehen kann. Die drei symmetrischen Anordnungen, die zickzackförmige Kette und die beiden Ketten (1/2/1) und (2/2), die sich nicht direkt ineinander umgestalten können, entstehen nur nach der Umorientierung je eines der Kinetochoren der beiden unsymmetrischen Anordnungen (1/1/2) und (1/3), die ebenfalls nicht direkt auseinander entstehen können. Die zickzackförmige Kette, die in ihrer Häufigkeit in allen Stämmen von der mittleren Prometaphase bis zur Metaphase signifikant zunimmt, kann nur entstehen, wenn an einer der beiden Anordnungen (1/1/3) oder (1/3), die selten gefunden wurden, und die bis zur Metaphase auch seltener werden, einer der Kinetochoren seine Orientierungsrichtung wechselt. Bei einer einfachen Betrachtung der Gestaltungsmöglichkeiten der Anordnungen von Ketten sind prinzipiell ähnliche Aussagen möglich wie bei den Ringen. Bei den Ketten gibt es jedoch für jede Anordnung weniger Wege möglicher Umordnung, daher sind hier einerseits Umwege erheblich seltener als bei den Ringen.

Die genauen Werte für die Wahrscheinlichkeiten der Umgestaltung der Anordnungen und für die Wahrscheinlichkeiten der Umorientierung von Kinetochoren an den Ringen und Ketten lassen sich durch erheblichen Mehraufwand [illegible] bestimmen. Dieser Weg ist jedoch für Untersuchungen von Quadrivalenten in Spermatocyten nur schwer möglich. Dazu wären sehr umfangreiche Beobachtungen von Umorientierungen an Quadrivalenten in Präparaten lebender Zellen notwendig oder Häufigkeitsangaben von Quadrivalentanordnungen aus fixierten Präparaten von [illegible] Kulturen, bei denen die Spindelbildung genau bekannt wäre. Über die Größenverhältnisse für die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung von Kinetochoren kann eine Analyse von Daten aus einem dynamischen Gleichgewicht Auskunft geben. Welche Aussagemöglichkeiten sich ergeben, wenn angenommen wird, daß die registrierten

Häufigkeiten der Metaphase eine Stichprobe aus einem dynamischen Gleichgewicht darstellen, wird in einem der folgenden Kapitel betrachtet.

H Vergleich der gefundenen Häufigkeiten mit den Wahrscheinlichkeiten eines hypothetischen stochastischen Modells

Die gefundenen Prometaphasehäufigkeiten der Multivalentanordnungen sind Schätzwerte für die Wahrscheinlichkeiten dieser Anordnungen in der mittleren Prometaphase. Die Häufigkeitsverteilungen der Metaphase haben sich aus den Verteilungen der mittleren Prometaphase entwickelt. Vom Beginn der Spindelbildung bis zur mittleren Prometaphase müssen schon Umorientierungen stattgefunden haben. Weil die Umorientierungen der Kinetochoren bei der Auswertung fixierter Präparate nur dann erkannt werden können, wenn diese Umorientierungen zu Veränderungen der Häufigkeiten führen, wird mit dem Schluß auf Umorientierungen zugleich auf eine ursprünglich andere Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen geschlossen. Eindeutige Informationen über die Wahrscheinlichkeiten, mit denen sich die Multivalente zu Beginn der Spindelbildung zwischen den beiden Polen anordnen, sind nur aus Zählungen an lebenden Zellen zu erhalten, bei denen der genaue Zeitpunkt beobachtet werden kann, an dem die Zellkernmembran zerbricht und die Kinetochoren der Chromosomen beginnen, sich auf die Aster, die prospektiven Pole der Spindel auszurichten.

Wenn es zufällig ist, mit welchem Pol die von den Kinetochoren aufgebauten Chromosomenfasern zuerst in Kontakt treten und damit den Kinetochor auf diesen Pol hin orientieren, wenn dabei also weder die Lage des Kinetochors am Multivalent, noch die Entfernung zu den anderen Kinetochoren, noch eine bereits vorliegende Orientierungsrichtung dieser ande-

ren Kinetochoren einen mehr als zufälligen hemmenden oder begünstigenden Einfluß ausüben, dann sind die Wahrscheinlichkeiten zur ersten Orientierung zu dem einen oder dem anderen der beiden Pole für jeden der Kinetochoren am Multivalent gleich. Die Häufigkeitsverteilung, die sich aus solchen stochastisch unabhängigen Orientierungen der Kinetochoren für die verschiedenen Multivalentanordnungen ergäbe, ist die gleiche wie diejenige, die sich ergäbe, wenn sich im Verlauf der Prometaphase die einzelnen Kinetochoren an den Multivalenten unabhängig voneinander mit einer gleich großen Wahrscheinlichkeit umorientierten. Bei stochastisch unabhängiger Umorientierung der einzelnen Kinetochoren im Verlauf der Prometaphase würde die Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen selbst unverändert bleiben. Eine solche Verteilung kann als stationär bezeichnet werden.

Die Werte für die Wahrscheinlichkeiten der Multivalentanordnungen bei stochastischer Unabhängigkeit und Gleichverteilung der Kinetochorenorientierung zeigt die Tabelle 21. Mit den Erwartungswerten dieses Modells wurden sowohl die gefundenen Häufigkeiten der Prometaphase als auch die der Metaphase verglichen; zugleich wurden dabei die gefundenen Häufigkeiten mit denjenigen verglichen, die zu erwarten wären, wenn sich alle Kinetochoren an den Multivalenten mit jeweils gleich großer Wahrscheinlichkeit umorientierten. Zum quantitativen Vergleich der gefundenen Häufigkeiten mit den Wahrscheinlichkeiten des Modells ist für jede der Multivalentanordnungen ein χ^2-Wert berechnet worden. Die Differenzen zwischen den gefundenen Häufigkeiten und den Erwartungswerten des Modells und die Wahrscheinlichkeiten für Übereinstimmung der verglichenen Werte sind in der Tabelle 22 für die Prometaphase und in der Tabelle 23 für die Metaphase angegeben. Die Differenzen vom Modell sind fast durchweg hochsignifikant. Die Häufigkeitsverteilungen der Prometaphase und die der Metaphase können also nicht das Ergebnis zufälliger, stochastisch unabhängiger Umorientierungen der

Tabelle 21

Die Wahrscheinlichkeiten der Multivalentanordnungen bei stochastischer Unabhängigkeit der Kinetochorenorientierung

A Mögliche Kombinationen

Quadrivalente			Trivalente		
Kombination der Kinetochoren	Anordnung der Ringe	Ketten	Kombination der Kinetochoren	Anordnung	
1. ABCD			1. ABC		
2. $^{A}_{BCD}$			2. $^{A}_{BC}$		
3. $^{AB}_{CD}$			3. $^{AB}_{C}$		
4. $^{ABC}_{D}$			4. ^{ABC}		
5. $^{ABD}_{C}$					
6. $^{AB}_{CD}$					
7. $^{AC}_{BD}$					
8. $^{A}_{BCD}$					

[Die weiteren möglichen Kombinationen sind nicht aufgeführt.]

B Zusammenfassung der in der Spindel nicht unterscheidbaren Kombinationen

Ringe			Ketten			Trivalente		
Anordnung		P	Anordnung		P	Anordnung		P
1.		0,125	1.		0,125	1.		0,25
2.		0,25	2.		0,125	2.		0,5
3.		0,5	3.		0,125	3.		0,25
4.		0,125	4.		0,25			
			5.		0,25			
			6.		0,125			
Σ		1,0			1,0			1,0

Tabelle 22

Die Differenzen zwischen den gefundenen Häufigkeiten der Prometaphase und den Erwartungswerten nach dem Modell der stochastischen Unabhängigkeit der Kinetochorenorientierung (vgl. Tab. 13 - 15). Bei den signifikanten Abweichungen sind die P-Werte nach der Berechnung des Abweichungs-χ^2 angegeben.

Stamm	177		181		215	
Anordnung	Diff.	P	Diff.	P	Diff.	P
	+ 172	<0,001	+ 80,6	<0,001	+ 308,4	<0,001
	+ 134	<0,001	+ 148,3	<0,001	+ 58,8	<0,01
	- 233	<0,001	- 172,5	<0,001	- 279,5	<0,001
	- 73	<0,001	- 54,4	<0,001	- 87,6	<0,001
	+ 181,4	<0,001	+ 231,6	<0,001	+ 241,4	<0,001
	+ 103,4	<0,001	+ 124,6	<0,001	+ 85,4	<0,001
	- 29,6	<0,01	- 10,4		+ 28,4	
	- 55,3	<0,001	- 91,8	<0,001	- 79,3	<0,001
	- 129,3	<0,001	- 157,8	<0,001	- 169,6	<0,001
	- 70,6	<0,001	- 96,4	<0,001	- 106,6	<0,001
	+ 64,5	<0,001	+ 82,3	<0,001	+ 17,5	<0,01
	- 25	<0,05	- 17,5		- 5	
	- 39,5	<0,001	- 64,8	<0,001	- 12,5	<0,001

Tabelle 23

Die Differenzen zwischen den gefundenen Häufigkeiten der Metaphase und den Erwartungswerten nach dem Modell der stochastischen Unabhängigkeit der Kinetochorenorientierung (vgl. Tab. 13 - 15). Bei den signifikanten Abweichungen sind die P-Werte nach der Berechnung des Abweichungs-χ^2 angegeben.

Stamm	177		181		215	
Anordnung	Diff.	P	Diff.	P	Diff.	P
⋈	+148,6	<0,001	+ 71,3	<0,001	+195,9	<0,001
□	+ 19,3		+ 44,5	<0,001	- 13,3	
△	-133,5	<0,001	- 91	<0,001	-145,5	<0,001
⌒	- 34,4	<0,001	- 24,8	<0,001	- 37,1	<0,001
⩘	+128,8	<0,001	+139,8	<0,001	+150,9	<0,001
⊓	+ 21,8	<0,05	+ 37,8	<0,001	+ 46,9	<0,001
⊐	- 21,3	<0,001	- 14,3		- 22,1	<0,01
⩙	- 44,5	<0,001	- 54,5	<0,001	- 63,3	<0,001
⌐	- 56,5	<0,001	- 71,5	<0,001	- 74,3	<0,001
⩛	- 28,3	<0,001	- 37,3	<0,001	- 38,1	<0,001
⩗	+ 36,3	<0,001	+ 42,8	<0,001	+ 7,5	<0,05
⌐	- 18,5	<0,05	- 20,5	<0,05	- 4,5	
⩛	- 17,8	<0,001	- 22,3	<0,001	- 2,8	

Kinetochoren sein. Die beobachteten Häufigkeitsverteilungen der Multivalentanordnungen sind also nicht stationär. Im Verlauf der Prometaphase werden die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der Kinetochoren von bisher unbekannten Faktoren bestimmt, bis in der Metaphase diejenige Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen erreicht ist, mit der die Anteile der chromosomalen Disjunktion und Nondisjunktion für die Anaphase festgelegt sind.

Die unbekannte anfängliche Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen vom Beginn der Spindelbildung könnte der Zufallsverteilung des Modells ähnlich sein; sie könnte aber auch eine bestimmte andere Häufigkeitsverteilung sein, die von spezifischen Bedingungen der Anfangssituation wesentlich bestimmt und charakterisiert wird. Ob die Situation zu Beginn der Spindelbildung mit der Verteilung des Zufallsmodells annähernd beschrieben werden kann oder nicht, läßt sich zunächst danach beurteilen, ob die Veränderungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase als eine Fortsetzung der Veränderungen vom Modell zur Prometaphase verstanden werden können.

Die Abbildung 13 zeigt in drei Diagrammen, in welcher Weise die Häufigkeiten der drei Ringfiguren in der Prometaphase und in der darauf folgenden Metaphase von den Wahrscheinlichkeiten des Zufallsmodells abweichen. Die hypothetische Zeiteinteilung auf der Abzisse entspricht dem Häufigkeitsverhältnis der Summe aller Ringe in der Prometaphase zur Summe aller Ringe in der Metaphase des jeweiligen Stammes (vgl. S.49). Die Häufigkeitsveränderungen bei der tetraederförmigen und bei der deltaförmigen Anordnung zwischen der Prometaphase und der Metaphase lassen sich als eine Fortsetzung der Abweichungen der Prometaphasehäufigkeiten von den Wahrscheinlichkeiten des Modells verstehen. Die Richtungen dieser Häufigkeitsveränderungen sind gleichbleibend. Die Häufigkeitsveränderungen des ebenen Rings zeigen einen

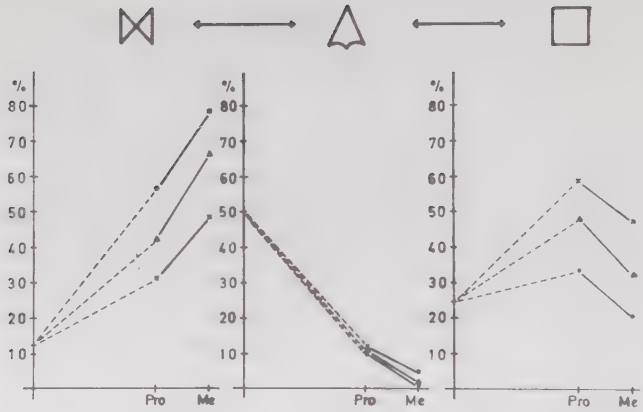

Abb. 13. Die Abweichungen der Häufigkeiten der 3 Ringanordnungen von den Wahrscheinlichkeiten des Zufallsmodells in der Prometaphase (Pro) und in der Metaphase (Me) der 3 Stämme 177 (-Δ-), 181 (- x -) und 215 (- • -). Die Skalierung auf der Abzisse gibt das Häufigkeitsverhältnis aller Prometaphasezellen zu allen Metaphasezellen an.

Richtungswechsel. Der Richtungswechsel widerspricht scheinbar der Vorstellung einer möglichen monotonen Entwicklung der Häufigkeiten von der hypothetischen Zufallsverteilung zur Metaphaseverteilung; die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der Kinetochoren würden demnach auch von Faktoren beeinflußt werden, die sich während der Prometaphase ändern. Tatsächlich widerspricht dieser Richtungswechsel der Vorstellung einer monotonen Entwicklung der Häufigkeiten nicht. Es können nämlich die Häufigkeitsveränderungen der einzelnen Anordnungen nicht jede für sich betrachtet werden. Vielmehr muß bedacht werden, daß durch die Umorientierung eines Kinetochors nur bestimmte Anordnungen ineinander umgestaltet werden können. Aus diesem Grund sind die drei Diagramme der Abbildung 13 so angeordnet worden, daß mit Bezug auf das Schema der Abbildung 11 und mit Bezug auf die kinetischen Betrachtungen des vorigen Kapitels erkannt werden kann, wie sich die Häufigkeits-Veränderungen wechselseitig bedingen.

Die Anordnung des ebenen Rings kann in der Prometaphase nur dann neu entstehen, wenn sich an der deltaförmigen Anordnung einer der beiden äußeren der drei zum gleichen Pol gerichteten Kinetochoren umorientiert. Die Häufigkeit des ebenen Rings kann in der frühen Prometaphase stark zunehmen, weil die deltaförmige Anordnung in einer anfänglichen Zufallsverteilung sehr häufig ist. Aus dieser Anordnung kann sich zunächst relativ häufig ein ebener Ring bilden, und zwar häufiger als sich ein ebener Ring in eine deltaförmige Anordnung umgestaltet. Ist in der späten Prometaphase die deltaförmige Anordnung sehr selten geworden, dann wird sie häufiger aus den ebenen Ringen entstehen, als sich ein ebener Ring aus einer deltaförmigen Anordnung bildet. Der Vorzeichenwechsel bei den Häufigkeitsveränderungen des ebenen Rings von der frühen zur späten Prometaphase ist also kein Widerspruch zur angenommenen stetigen Entwicklung der Häufigkeiten von der Anfangssituation, die mit einem Zufalls-

modell beschrieben werden kann, über die Umorientierungsereignisse der Prometaphase zur Metaphase. Es besteht auch kein Widerspruch zu der Annahme, daß das Verhältnis zweier Umorientierungswahrscheinlichkeiten über die Zeit der Prometaphase konstant bleibt. Auf die Unterschiede zwischen den Mutationsstämmen, die bei den Häufigkeitsveränderungen des tetraederförmigen und des ebenen Rings deutlich werden, wird später Bezug genommen.

Auf der Abbildung 14 ist in fünf Diagrammen dargestellt, in welcher Weise die Häufigkeiten der fünf Kettenanordnungen in der Prometaphase und in der darauf folgenden Metaphase von den Wahrscheinlichkeiten des Modells abweichen. Die fünf Diagramme sind so angeordnet worden, daß mit Bezug auf das Schema der Abbildung 12 erkennbar ist, durch welche Häufigkeitsveränderung einer Anordnung sich die Häufigkeit einer anderen Anordnung verändern kann. Nach diesen diagrammatischen Darstellungen erscheinen die Häufigkeitsveränderungen zwischen der Prometaphase und der Metaphase als eine Fortsetzung der Abweichungen der Prometaphasehäufigkeiten von den Wahrscheinlichkeiten des Zufallsmodells. Die drei Mutationsstämme stimmen darin deutlich überein. Die Veränderungen bei den Anordnungen (1/2/1) und (2/2), die widersprüchlich zur Vorstellung einer stetigen Entwicklung zu sein scheinen, können in der gleichen Weise erklärt werden wie beim ebenen Ring. Diese beiden Anordnungen können in der frühen Prometaphase zunächst relativ häufig gebildet werden aus den 1:3-Anordnungen (1/1/2) und (1/3), die zufallsgemäß zu jeweils 25 % entstehen. In der späten Prometaphase sind die 1:3-Anordnungen so selten geworden, daß sie häufiger aus einer der Anordnungen (1/2/1) und (2/2) gebildet werden als eine dieser Anordnungen aus den 1:3-Anordnungen neu entsteht.

Die Abweichungen der Trivalenthäufigkeiten von den Erwartungswerten des Zufallsmodells sind in den beiden Diagram-

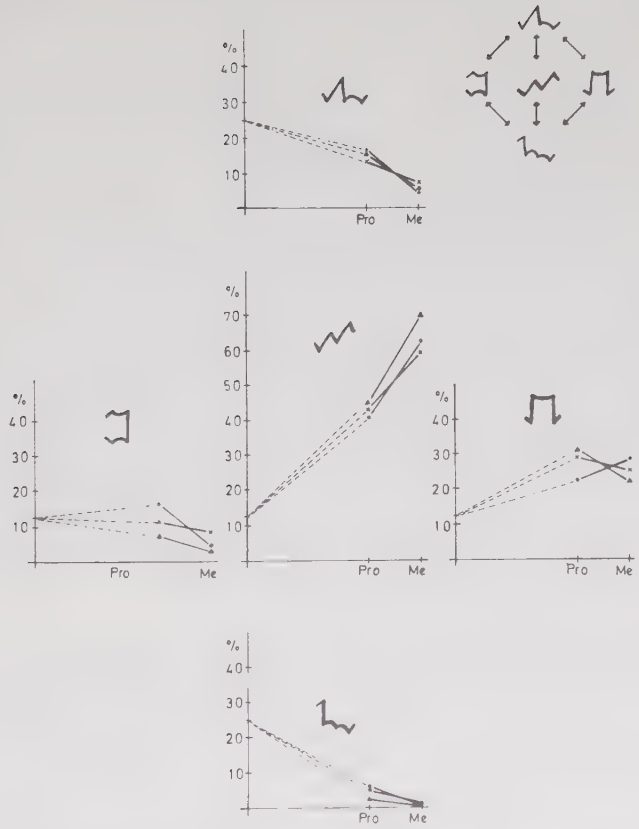

Abb. 14. Die Häufigkeitsveränderungen der 5 Kettenanordnungen vom Zufallsmodell über die Prometaphase zur Metaphase. Darstellung wie auf Abb. 13.

men der Abbildung 15 dargestellt. Auch die Trivalentanordnungen zeigen in ihren Häufigkeitsveränderungen Übereinstimmung mit der Vorstellung einer möglichen stetigen Entwicklung von den Wahrscheinlichkeiten des Zufallsmodells zur Häufigkeitsverteilung der Metaphase.

Es ist anzunehmen, daß die Faktoren, welche die multivalenten Paarungsverbände zur Anordnung der Metaphase führen, bereits mit dem Beginn der Spindelbildung einsetzen. Das Modell der stochastischen Unabhängigkeit und Gleichverteilung der Kinetochorenorientierung wird nicht exakt verwirklicht sein. Das Modell ist, wie bereits erwähnt, rein hypothetisch. Durch den Vergleich mit diesem Modell kann jedoch aufgezeigt werden, in welcher Weise sich die Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen der Metaphase durch einen Prozeß von Kinetochorenumorientierungen während der Prometaphase entwickelt hat. Außerdem wird durch den Vergleich mit dem Zufallsmodell deutlich, daß die Bedingungen zu Beginn der Spindelbildung auf die Häufigkeitsverteilung der Endsituation der Metaphase einen so geringen Einfluß haben, daß die stattfindenden Häufigkeitsveränderungen widerspruchsfrei als von einer Zufallssituation ausgehend beschrieben werden können.

Nach dem bisherigen Stand der Analyse ergeben sich die folgenden allgemeinen Einsichten in den prometaphasischen Entwicklungsprozeß, der zur metaphasischen Häufigkeitsverteilung der Multivalentanordnungen führt: Die Entwicklung ist eine Folge von Umorientierungen der Kinetochoren. Einzelne Kinetochoren geben die Orientierung zu ihrem Spindelpol auf und bauen in Orientierung auf den anderen Pol der Spindel eine neue Chromosomenfaser auf. Durch diese Umorientierungen der Kinetochoren werden die verschiedenen Anordnungen der Multivalente ineinander umgestaltet. Die Häufigkeitsveränderungen von der hypothetischen Anfangsverteilung über die Prometaphase zur Metaphase sind vereinbar mit der Annahme, daß

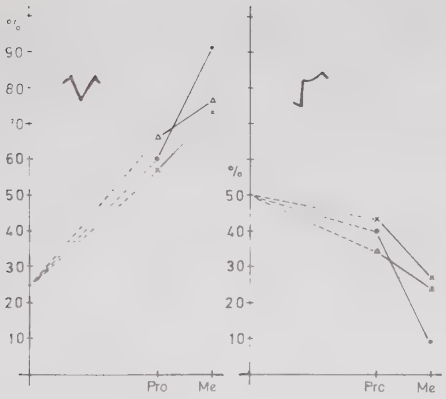

Abb. 15. Die Häufigkeitsveränderungen der 2 Trivalentanordnungen vom Zufallsmodell über die Prometaphase zur Metaphase. Darstellung wie auf Abb. 13 u. 14.

das Verhältnis der Wahrscheinlichkeiten von Hin- und Rückreaktion der direkten Umgestaltung von zwei Anordnungen über die Zeit konstant ist. Ob die sich daraus ergebende Entwicklung der Anordnungshäufigkeiten linear ist, wie dies auf einigen Diagrammen der Abbildungen 13 - 15 erscheint, oder nach welchen anderen Funktionen sie erfolgt, kann aus den vorliegenden Daten noch nicht eindeutig erkannt werden. Aus dem Zusammenhang der kinetischen Betrachtungen des vorigen Kapitels muß jedoch auf e-Funktionen geschlossen werden.

Von der hypothetischen Anfangsverteilung zur Metaphase nehmen im Verlauf der prometaphasischen Umorientierungsereignisse die Häufigkeiten der Multivalentanordnungen mit alternierender Orientierungsrichtung ihrer Kinetochoren permanent zu. Bis zur Metaphase erfolgt eine Akkumulation dieser offenbar orientierungsstabilen Multivalentanordnungen. Durch die Umorientierung nur eines Kinetochors können die orientierungsstabilen Quadrivalentanordnungen im einen Fall direkt nur aus der Anordnung des deltaförmigen Rings, im anderen Fall direkt nur aus einer der beiden Kettenanordnungen (1/1/2) oder (1/3) entstehen. Diese 1:3-Quadrivalentanordnungen sind instabile Übergangsanordnungen; sie nehmen im Verlauf der Prometaphase in ihrer Häufigkeit permament ab. Durch die Umorientierung von Kinetochoren entstehen also nicht nur orientierungsstabile, sondern auch sehr instabile Anordnungen.

Die Quadrivalentanordnung des ebenen Rings und z.T. auch die der beiden Ketten (1/2/1) und (2/2) nehmen im Verlauf der Prometaphase in ihrer Häufigkeit zunächst zu und werden dann in der späten Prometaphase wieder seltener. An dem Wechsel der Häufigkeitsveränderungen dieser Anordnungen ist zu erkennen, daß in der frühen Prometaphase das Tempo der Häufigkeitszunahme der stabilen Anordnungen durch die relative Häufigkeit der 1:3-Anordnungen bestimmt wird. In der späten Prometaphase dagegen wird das Tempo der Häufigkeitszunahme der stabilen Anordnungen durch die relative Häufigkeit des ebenen Rings bzw. der beiden Ketten

(1/2/1) und (2/2) bestimmt, die sich auf dem Weg über die instabilen 1:3-Anordnungen in die stabilen Anordnungen umgestalten.

In der Kinetochorenposition, in der die beiden benachbarten Kinetochoren zum Gegenpol der Spindel orientiert sind, ist die Umorientierung relativ selten. In dieser Position werden die kontraktilen Chromosomenfasern der Kinetochoren in Spannung gehalten von den kontraktilen Chromosomenfasern der jeweils benachbarten und zum Gegenpol orientierten Kinetochoren. Die Chromosomen werden dadurch in der für die Prometaphase typischen Weise gestreckt. Wie groß die Kraft dieser Zugspannung ist, kann an der Chromosomenstreckung in der Prometaphase direkt gesehen werden. Es besteht unverkennbar ein kausaler Zusammenhang zwischen der Orientierungsstabilität von Kinetochoren in einer solchen Position, in der benachbarte Kinetochoren zum Gegenpol der Spindel orientiert sind, und der Zugspannung, unter der die Chromosomenfasern dieser Kinetochoren stehen. Die beobachteten Häufigkeitsveränderungen der Multivalentanordnungen sind erklärbar mit der Annahme, daß die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung eines solchen Kinetochors in der Prometaphase reduziert ist, weil die sich aufbauenden Chromosomenfasern durch die Zugspannung antagonistisch wirkender kontraktiler Fasern gespannt werden.

An dieser Stelle ist es nötig, bereits auf das Prinzip der Koorientierung, das in der Diskussion noch besprochen wird, einzugehen. Das Prinzip der Koorientierung, das vielfach zur Erklärung beobachteter Häufigkeiten von Multivalenten und auch zur Aufstellung von Zufallsmodellen (s. JOHN u. LEWIS, 1965) benutzt wird, ist ursprünglich in der Vorstellung entwickelt worden, daß sich die Kinetochoren durch die Wirkung abstoßender Kräfte zwischen den Kinetochoren eines Chromosomenverbands auf die Gegenpole der Spindel orientieren (DARLINGTON, 1937). Wären die Kinetochoren in bestimmten Orientierungen deswegen stabil, weil sie sich wechselseitig abstoßen, und würde die Kinetochorenentfernung der Prometaphasestreckung durch die Zugkräfte der kontraktilen Chromosomenfasern nur begünstigt, nicht aber verursacht, dann wäre zu erwarten, daß durch Kinetochorenumorientierung die Häufigkeit

ten der beiden Anordnungen, des tetraederförmigen und des ebenen Rings, nur zunähmen; d.h., die Häufigkeit des tetraederförmigen Rings dürfte dann nicht auf Kosten des ebenen Rings zunehmen. Die Häufigkeitsabnahme des ebenen Rings von der Prometaphase zur Metaphase ist jedoch in den beiden Stämmen 177 und 215 hochsignifikant (s. Tab. 17 und 19). Bei den Ketten wären unter diesen Bedingungen für die dem ebenen Ring vergleichbaren Anordnungen (1/2/1) und (2/2) ebenfalls nur zunehmende Häufigkeiten zu erwarten. Würde die Orientierungsstabilität vorzugsweise durch die Abstoßung nur der homologen Kinetochoren bewirkt, dann wäre ausserdem zu erwarten, daß die Häufigkeit der tetraederförmigen Anordnung und die der zickzackförmigen Kette nicht über 50 % ansteigen. Durch wechselseitige Abstoßung der Kinetochoren können also die beobachteten Häufigkeiten der Multivalentanordnungen und ihre Änderungen nicht plausibel erklärt werden. Widerspruchsfrei erklärt werden können diese Häufigkeitsveränderungen dagegen mit der Annahme, daß sich die Größe der Zugspannung, unter der eine Chromosomenfaser steht, positiv auf die Orientierungsstabilität der Kinetochoren auswirkt. Der von den Kinetochoren induzierte Aufbau einer Chromosomenfaser wird demnach wesentlich dadurch gefördert, daß die kontraktilen Chromosomenfasern bei alternierender Orientierungsrichtung der Kinetochoren wechselseitige Zugspannung aufeinander ausüben. Fehlt diese Zugspannung, oder ist sie reduziert, dann ist auch der weitere Aufbau der Chromosomenfaser so behindert, daß die Kinetochoren, aus welcher Ursache auch immer, ihre Orientierung aufgeben und zum anderen Pol der Spindel eine neue Chromosomenfaser aufbauen oder zu amphiteler Orientierung übergehen können.

I Die Positionen der Kinetochoren an den Multivalenten

Für die Fortführung der Analyse wird zweckmäßigerweise jeder einzelne Kinetochor in seiner Position relativ zur Orientierungsrichtung der ihm am Multivalent benachbarten Kinetochoren be-

schrieben und entsprechend bezeichnet. Die Position, in der sich ein Kinetochor befindet, wenn die beiden ihm benachbarten Kinetochoren zum gegenüberliegenden Pol orientiert sind, wird mit tt (= trans-trans) bezeichnet. Mit ct (= cis-trans) wird die Position eines Kinetochors bezeichnet, wenn der eine ihm benachbarte zum gleichen Pol, der andere zum Gegenpol orientiert ist. Wenn die beiden benachbarten Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind, wird die Position analog mit cc (= cis-cis) bezeichnet. An den quadrivalenten Ketten und an den Trivalenten gibt es noch zwei weitere Positionen, bei denen der Kinetochor sich am Ende der Kette befindet und zur einen Seite keinen Nachbarn aufweist; wenn der eine Nachbar zum gegenüberliegenden Pol orientiert ist, wird die Position mit dt (= distal-trans) bezeichnet; mit dc (= distal-cis) wird sie bezeichnet, wenn der benachbarte Kinetochor zum gleichen Pol orientiert ist. Diese Bezeichnungen werden zunächst unabhängig davon benutzt, an welchen Anordnungen eines Paarungsverbands ein Kinetochor diese Position einnimmt.

Die vier Kinetochoren am tetraederförmigen Ring und die beiden mittleren Kinetochoren an der zickzackförmigen Kette erhalten also die Bezeichnung tt, ebenso jeweils der Kinetochor, der am deltaförmigen Ring, an der Kette (1/1/2) und am V-förmigen Trivalent allein zu einem Pol orientiert ist. Die vier Kinetochoren des ebenen Rings und die beiden mittleren derjenigen quadrivalenten Ketten, die in ihrer Anordnung als geöffnete ebene Ringe angesehen werden können, erhalten die Bezeichnung ct; an der deltaförmigen Ringfigur sind die beiden äußeren der drei zum gleichen Pol orientierten Kinetochoren in dieser Position; an den beiden Ketten (1/1/2) und (1/3) und am stabförmigen Trivalent ist es jeweils ein mittlerer Kinetochor. In der Position cc befindet sich der mittlere der drei zum gleichen Pol orientierten Kinetochoren an der deltaförmigen Ringfigur und bei den Ketten an der Figur (1/3). In der Position dt befinden sich die beiden Kinetochoren an den Enden der Kette bei der Anordnung (1/2/1), an den Enden des V-förmigen Trivalents, am einen Ende der Kette bei den Anordnungen (1/1/2) und (1/3) sowie am Ende des stabförmigen Trivalents. In der Position dc befinden sich

die beiden Kinetochoren am Ende der Kette bei der Anordnung (2/2) und ein Kinetochor am einen Ende der Kette bei den Anordnungen (1/1/2) und (1/3) sowie am Ende des stabförmigen Trivalents.

Die Einführung dieser Bezeichnungsweise ermöglicht in der Analyse einen Zugang zur Schätzung der Größenordnung für die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung von Kinetochoren. Außerdem können damit weitere Faktoren aufgefunden werden, von denen die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung abhängig sind.

Die Häufigkeiten, mit denen die Kinetochoren in diesen Positionen an den drei Paarungsverbänden der drei Mutationsstämme gefunden wurden, zeigen die Tabellen 24 - 26. In der ersten Spalte jeder Tabelle stehen die Wahrscheinlichkeiten, mit denen die Kinetochoren in den verschiedenen Positionen nach dem Modell der stochastischen Unabhängigkeit und Gleichverteilung der Kinetochoren (s. S.65) zu erwarten sind. Für die medianen und die distalen Kinetochoren an den quadrivalenten und trivalenten Ketten sind diese Wahrscheinlichkeiten getrennt aufgeführt. Neben den beobachteten Häufigkeiten der Prometaphase und der Metaphase sind die prozentualen Häufigkeiten angegeben.

Ob sich die gefundenen Häufigkeiten dieser Kinetochorenpositionen unabhängig von der Zugehörigkeit zu einem der Paarungsverbände zwischen der Prometaphase und der Metaphase ändern, ist in Kontingenztafeln mit χ^2 geprüft worden. Die Ergebnisse der Berechnungen zeigt die Tabelle 27. Bei den signifikanten Abweichungen von der Homogenität sind in dieser Tabelle neben den χ^2-Werten und den Freiheitsgraden der Kontingenztafeln auch die Wahrscheinlichkeiten für die Unabhängigkeit angegeben. Weil sich die Häufigkeitsveränderungen der Kinetochorenpositionen wechselseitig bedingen, reicht der Nachweis einiger signifikanter Abweichungen aus, um festzustellen, daß die Häufigkeitsveränderungen der Kinetochorenpositionen für jeden Paarungsverband getrennt betrachtet werden müssen. Die Unterschiede zwischen den Paarungsverbänden, die, wie die Tabelle 27 belegt, vor allem bei den tt-Positionen zum Ausdruck kommen, zeigen, welchen Einfluß die Umorientierungen der distalen Kinetochoren auf die

Tabelle 24

Die Häufigkeiten der Kinetochorenpositionen im Stamm 177

Paarungs-verbände	Position	Zufalls-Wahrschein-lichkeit	Häufigkeiten in der			
			Prometaphase		Metaphase	
		p	n	%	n	%
Ringe	tt	0,25	1039	44,5	736	66,9
	ct	0,5	1238	53,0	360	32,7
	cc	0,25	59	2,5	4	0,4
	Summe	1	2336	100,0	1100	100,0
Ketten	tt	0,25	590	52,2	326	72,2
	ct	0,5	528	46,8	126	27,8
	cc	0,25	12	1,0	-	-
	Summe	1	1130	100,0	452	100,0
	dt	0,5	950	84,0	426	94,2
	dc	0,5	180	16,0	26	5,8
	Summe	1	1130	100,0	452	100,0
Trival.	tt	0,25	104	65,8	54	76,1
	ct	0,5	54	34,2	17	23,9
	cc	0,25	-	-	-	-
	Summe	1	158	100,0	71	100,0
	dt	0,5	262	82,9	125	88,0
	dc	0,5	54	17,1	17	12,0
	Summe	1	316	100,0	142	100,0

Tabelle 25

Die Häufigkeiten der Kinetochorenpositionen im Stamm 181

Paarungs-verbände	Position	Zufalls-Wahrschein-lichkeit	Häufigkeiten in der			
			Prometaphase		Metaphase	
		p	n	%	n	%
Ringe	tt	0,25	585	33,6	392	49,5
	ct	0,5	1110	63,8	392	49,5
	cc	0,25	45	2,6	8	1,0
	Summe	1	1740	100,0	792	100,0
Ketten	tt	0,25	757	49,1	374	62,8
	ct	0,5	750	48,6	219	36.7
	cc	0,25	35	2,3	3	0,5
	Summe	1	1542	100,0	596	100,0
	dt	0,5	1234	80,0	527	88,4
	dc	0,5	308	20,0	69	11,6
	Summe	1	1542	100,0	596	100,0
Trival.	tt	0,25	147	56,8	65	73,0
	ct	0,5	112	43,2	24	27,0
	cc	0,25	-	-	-	-
	Summe	1	259	100,0	89	100,0
	dt	0,5	406	78,4	154	86,5
	dc	0,5	112	21,6	24	13,5
	Summe	1	518	100,0	178	100,0

Tabelle 26

Die Häufigkeiten der Kinetochorenpositionen im Stamm 215

Paarungs-verbände	Position	Zufalls-Wahrschein-lichkeit	Häufigkeiten in der			
			Prometaphase		Metaphase	
		p	n	%	n	%
Ringe	tt	0,25	1655	59,0	935	78,7
	ct	0,5	1078	38,4	250	21,0
	cc	0,25	71	2,5	3	0,3
	Summe	1	2804	99,9	1188	100,0
Ketten	tt	0,25	830	48,6	391	64,0
	ct	0,5	832	48,8	217	35,6
	cc	0,25	44	2,6	2	0,4
	Summe	1	1706	100,0	610	100,0
	dt	0,5	1258	73,8	563	92,2
	dc	0,5	448	26,2	47	7,8
	Summe	1	1706	100,0	1220	100,0
Trival.	tt	0,25	30	60,0	10	90,9
	ct	0,5	20	40,0	1	9,1
	cc	0,25	-	-	-	-
	Summe	1	50	100,0	11	100,0
	dt	0,5	80	80,0	21	95,5
	dc	0,5	20	20,0	1	4,5
	Summe	1	100	100,0	22	100,0

Häufigkeitsveränderungen der medianen Kinetochorenpositionen haben.

Aus den Häufigkeitsdaten der Kinetochorenpositionen können die einzelnen Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der Kinetochoren nicht direkt geschätzt werden, weil sich die beobachteten Häufigkeiten nicht nur aus der Orientierungsstabilität eines Kinetochors in dieser Position, sondern auch aus der Entstehungshäufigkeit aus anderen Positionen ergeben. Es kann jedoch vermutet werden, daß die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung in der Reihenfolge zunehmen, in der die Metaphasehäufigkeiten der Kinetochorenpositionen abnehmen. Die Metaphasehäufigkeiten der Kinetochorenpositionen werden in der Reihenfolge tt, ct, cc und dt, dc geringer (s. Tab. 24 - 26). Diese Reihenfolge stimmt bei allen Paarungsverbänden der drei Mutationsstämme überein. In dieser Reihenfolge der Kinetochorenpositionen nehmen offenbar die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung zu. Die Übereinstimmung zwischen den Paarungsverbänden und zwischen den Stämmen gilt aber nur für die Reihenfolge der Häufigkeitsgrößen. Zwischen den drei Stämmen unterscheiden sich nämlich die Verteilungen dieser Metaphasehäufigkeiten bei den quadrivalenten Ringen und Ketten (s. Tab. 28). Lediglich bei den Trivalenten lassen sich keine Unterschiede zwischen den Stämmen nachweisen.

Um für die Umorientierungswahrscheinlichkeiten ein indirektes Schätzverfahren durchführen zu können, muß die Kennzeichnung der Kinetochorenpositionen ausreichend differenziert sein. Erst dann ist es möglich, den so gekennzeichneten Positionen innerhalb eines jeden Mutationsstammes jeweils eine spezifische Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung zuzuordnen und diese dann in ihrer Größe zu bestimmen. Für die Ringe wird eine Differenzierung in der Bezeichnung der Position ct eingeführt. Es wird unterschieden zwischen der Position ct am ebenen Ring, ct_e, und der Position ct an der deltaförmigen Anordnung, ct_d, wodurch jeder Kinetochor nach einer Umorientierung eine andere Bezeichnung erhält, als er vorher hatte. Es kann nämlich gezeigt werden, daß die Umorientierungswahrscheinlichkeiten für diese beiden Positionen nicht gleich groß sein können. Denn im dynamischen

Tabelle 27

χ^2-Werte aus der Berechnung von Kontingenztafeln zur Beantwortung der Frage, ob sich die Häufigkeiten der Kinetochorenpositionen unabhängig von der Zugehörigkeit zu einem der Paarungsverbände zwischen der Prometaphase und der Metaphase ändern.

Stamm	177			181			215		
Position	χ^2	FG	P	χ^2	FG	P	χ^2	FG	P
tt	10,5042	2	<0,01	14,0491	2	<0,001	7,7651	2	<0,05
ct	3,1374	2		7,4183	2	<0,05	4,2284	2	
cc	0,8048	1		1,0795	1		1,0449	1	
dt	0,2526	1		1,2064	1		4,6377	1	<0,05
dc	5,1617	1	<0,05	0,0289	1		0,5349	1	

Tabelle 28

Prüfung auf Homogenität der Kinetochorenpositionen in der Metaphase der drei Stämme

Paarungsverbände	χ^2	FG	P
Ringe	185,4783	4	<0,001
Ketten	24,8547	8	<0,01
Trivalente	1,7030	4	<0,05

Gleichgewicht (vgl. Kap. G), dem sich die Häufigkeitsverteilung der Anordnungen durch die Folge der Umorientierungsereignisse annähert, wären bei gleichen Werten für die Umorientierungswahrscheinlichkeiten der Positionen ct_e und ct_d doppelt soviele deltaförmige wie ebene Ring zu erwarten. Die Tendenz der Häufigkeitsveränderungen von der Prometaphase zur Metaphase zeigt jedoch, daß ein solches Häufigkeitsverhältnis der beiden Anordnungen keineswegs erreicht wird.

J Modell zur quantitativen Beschreibung der Umorientierungsereignisse in der Prometaphase

In diesem Kapitel wird ein Modell vorgestellt, das geeignet ist, den Prozeß der Umorientierungen von Kinetochoren und den der Umgestaltungen von Quadrivalentanordnungen quantitativ zu beschreiben. Unter geeigneten Voraussetzungen können mit diesem Modell die stochastischen Ereignisse in der Prometaphase rechnerisch simuliert werden. Mit Iterationsberechnungen, die in dieser Arbeit auf die Ereignisse an den Ringen beschränkt werden, ist es dann möglich, Größenverhältnisse für die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung von Kinetochoren zu ermitteln. Diese werden so bestimmt, daß aus einer willkürlich festgelegten Anfangsverteilung der Anordnungsfrequenzen zunächst die beobachteten realen Häufigkeiten der Prometaphase und dann die der Metaphase errechnet werden.

Mit der rechnerischen Simulation eines solchen Modells wird zwar nicht bewiesen, daß die prometaphasischen Umorientierungsereignisse in den Spermatocyten von P. ferruginea nach diesen Gesetzmäßigkeiten ablaufen; es wird jedoch nachgewiesen, daß durch Umorientierungen solche Häufigkeitsverteilungen für die Quadrivalentanordnungen entstehen können, wie sie in der Prometaphase und in der Metaphase beobachtet wurden.

Für das Modell werden die folgenden Voraussetzungen festgelegt:

1. Mit dem Modell werden nur jene Umorientierungsereignisse beschrieben, bei denen ein Kinetochor von einer syntelen Orientierung in eine andere syntele Orientierung übergeht. Der Übergang zu amphiteler Orientierung wird nicht berücksichtigt. Aus diesem Grunde kann das Modell nur als eine Näherungslösung verstanden werden. Der Übergang zu amphiteler Orientierung ist an den Multivalenten relativ selten (s. S.56) und seine Vernachlässigung wird daher die quantitative Bestimmung der Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung vermutlich nur in geringem Maß beeinträchtigen. Prinzipiell ist es jedoch möglich, das Modell so zu erweitern, daß auch diese Ereignisse berücksichtigt werden können.

2. Wie im vorigen Kapitel begründet wurde, ist es nötig, an den Ringen mindestens vier Kinetochorenpositionen voneinander zu unterscheiden. Im Modell wird festgelegt, daß an den Ringen nur vier Kinetochorenpositionen zu unterscheiden sind, denen jeweils eine zu bestimmende Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung zukommt. Mit den Simulationsberechnungen kann gezeigt werden, daß die Unterscheidung dieser vier Kinetochorenpositionen (tt, ct_e, ct_d, cc) ausreicht, um den Prozeß der prometaphasischen Umorientierungen hinreichend genau quantitativ zu beschreiben. Im Modell wird also angenommen, daß auch ein Kinetochor in der Position tt eine reale, wenn auch geringe Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung hat. Es besteht daher die Möglichkeit, daß die Anordnung des Rings, in der alle Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind, sich tatsächlich neu bilden kann. Im Modell wird angenommen, daß die Wahrscheinlichkeit für die Umorientierung eines Kinetochors unabhängig davon ist, ob ein Kinetochor aktiv oder passiv in seine Position gekommen ist, und welche Position er vorher innehatte. Da nur zwischen verschiedenen Kinetochorenpositionen unterschieden wird, kann sich der Einfluß verschieden langer Interkinetochorabstände (s. Abb. 5) nur in den zwischen den Stämmen unterschiedlichen Umorientierungswahrscheinlichkeiten ausdrücken.

3. Es wird angenommen, daß die bedingte Wahrscheinlichkeit für die Umorientierung eines Kinetochors in einer bestimmten Posi-

tion in Bezug auf andere im Verlauf der Prometaphase gleich bleibt. Damit wird nicht vorausgesetzt, daß die Zeitdauer, in der im Mittel eine Umorientierung stattfindet, im Verlauf der Prometaphase gleich bleibt, bzw. daß die Zahl der Umorientierungen eine lineare Funktion der Zeit ist. Die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung eines Kinetochors wird als zeitunabhängig betrachtet und ausschließlich auf die Umorientierungswahrscheinlichkeiten der anderen Kinetochoren bezogen. Die Abzisse der Simulationskurven (Abb. 16) zeigt daher eine äquidistante Ereignisskala.

Mit diesen Voraussetzungen läßt sich in einem Gleichungssystem allgemein formulieren, in welcher Weise die Wahrscheinlichkeiten für die 4 Anordnungen der Ringe durch Umorientierungen ihrer Kinetochoren verändert werden. Der stetig fortlaufende Umorientierungsprozeß wird zur Vereinfachung in Einzelschritte zerlegt, die in diskreten Intervallen mit der Numerierung n ablaufen. Die Wahrscheinlichkeiten der vier Anordnungen vor einer Umorientierung werden mit $P_n^{(i)}$ (i = 1, 2, 3, 4) bezeichnet. Entsprechend werden mit $P_{n+1}^{(i)}$ die Wahrscheinlichkeiten der Anordnungen nach einer Umorientierung bezeichnet. Die Summe der vier P_n-Werte ist 1, ebenso die Summe der vier P_{n+1}-Werte. Im Intervall zwischen der Verteilung der P_n-Werte und der der P_{n+1}-Werte orientiert sich ein Kinetochor in der Position x (x = tt, ct_e, ct_c, cc) mit der ihm zugehörigen Wahrscheinlichkeit $\bar{p}_{(x)}$ um. Die $\bar{p}_{(x)}$-Werte sind so gewählt, daß die Summe aller $\bar{p}_{(x)}$-Werte an den vier möglichen Anordnungen der Ringe, also 16 z.T. gleich große $\bar{p}_{(x)}$-Werte, sich zu 1 ergänzen. Im Intervall von P_n bis P_{n+1} wird demnach z.B. die Wahrscheinlichkeit für die tetraederförmige Anordnung um ihren $4\bar{p}_{(tt)}$-fachen Betrag vermindert und um den $\bar{p}_{(cc)}$-fachen Betrag der deltaförmigen Anordnung vermehrt.

Mit diesen Annahmen läßt sich der Umorientierungsprozeß nach der Theorie der stochastischen Prozesse approximativ durch eine homogene MARKOW-Kette beschreiben (vgl. FELLER, 1957; TAKACS, 1962). Die MARKOW-Kette hat für die Ringe 4 mögliche Zustände entsprechend den 4 Anordnungen: tetraederförmiger Ring (1), ebener

Ring (2), deltaförmiger Ring (3) und die Anordnung, in der alle Kinetochoren zum gleichen Pol gerichtet sind (4). Die MARKOW-Kette hat die Matrix der Übergangswahrscheinlichkeiten

$$\begin{bmatrix} P_{11} & P_{12} & P_{13} & P_{14} \\ P_{21} & P_{22} & P_{23} & P_{24} \\ P_{31} & P_{32} & P_{33} & P_{34} \\ P_{41} & P_{42} & P_{43} & P_{44} \end{bmatrix} =$$

$$= \begin{bmatrix} (1 - 4\bar{p}_{tt}) & 0 & 4\bar{p}_{tt} & 0 \\ 0 & (1 - 4\bar{p}_{cte}) & 4\bar{p}_{cte} & 0 \\ \bar{p}_{cc} & 2\bar{p}_{ctd} & (1 - \bar{p}_{tt} - 2\bar{p}_{ctd} - \bar{p}_{cc}) & \bar{p}_{tt} \\ 0 & 0 & 4\bar{p}_{cc} & (1 - 4p_{cc}) \end{bmatrix}$$

Dabei ist P_{ij} die Wahrscheinlichkeit dafür, daß ein Ring nach einer Umorientierung, zum Zeitpunkt n+1, die Anordnung j hat unter der Voraussetzung, daß er vor einer Umorientierung, zum Zeitpunkt n, die Anordnung i hatte. Die Tabelle 29 zeigt eine andere Matrixdarstellung des Übergangs

$$\underline{P_{n+1}} = \underline{A} \cdot \underline{P_n}$$

Dieses Gleichungssystem formuliert die Beziehungen zwischen den Wahrscheinlichkeiten für die 4 möglichen Anordnungen der Ringe und den Wahrscheinlichkeiten für die Umorientierungen von Kinetochoren in den 4 verschiedenen Positionen an den Ringen. Für eine entsprechende Beschreibung des erheblich komplexeren Systems bei den Ketten sind nur 3 mediane und 2 distale Kinetochorenpo-

Tabelle 29

Transformationsgleichung zur Beschreibung der Wahrscheinlichkeitsveränderungen von Ringanordnungen durch Umorientierungen von Kinetochoren

$$\begin{bmatrix} p^{I}_{n+1} \\ p^{II}_{n+1} \\ p^{III}_{n+1} \\ \\ \\ p^{IV}_{n+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1-4\bar{p}_{(tt)} & 0 & \bar{p}_{(cc)} & 0 \\ 0 & 1-4\bar{p}_{(ct_e)} & 2\bar{p}_{(ct_d)} & 0 \\ 4\bar{p}_{(tt)} & 4\bar{p}_{(ct_e)} & 1-\bar{p}_{(tt)} & 4\bar{p}_{(cc)} \\ & & -2\bar{p}_{(ct_d)} & \\ & & -\bar{p}_{(cc)} & \\ 0 & 0 & \bar{p}_{(cc)} & 1-4\bar{p}_{(cc)} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p^{I}_{n} \\ p^{II}_{n} \\ p^{III}_{n} \\ \\ \\ p^{IV}_{n} \end{bmatrix}$$

sitionen unterschieden worden. Die Tabelle 30 zeigt die Transformationsgleichung in Matrixdarstellung für die Veränderungen, die bei den Anordnungen der Ketten durch Umorientierungen stattfinden. Die entsprechende Darstellung für die Veränderungen an den Trivalenten zeigt die Tabelle 31.

Die Grenzverteilung $\lim_{n\to\infty} P_n^{(i)}$ der einzelnen Ringanordnungen, die erreicht werden würde, wenn der Umorientierungsprozeß hinreichend lange ablaufen könnte, errechnet sich aus dem homogenen Gleichungssystem

$$\underline{P_n} = \underline{\underline{A}} \cdot \underline{P_n}$$

d.h.

$$\begin{bmatrix} (P_{11}-1) & P_{21} & P_{31} & P_{41} \\ P_{12} & (P_{22}-1) & P_{32} & P_{42} \\ P_{13} & P_{23} & (P_{33}-1) & P_{43} \\ P_{14} & P_{24} & P_{34} & (P_{44}-1) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} P_n^1 \\ P_n^2 \\ P_n^3 \\ P_n^4 \end{bmatrix} = 0$$

Durch Einsetzen der $\bar{p}$-Werte für die vier Positionen an den Ringen erhält man

$$\begin{bmatrix} -4\bar{p}_{tt} & 0 & \bar{p}_{cc} & 0 \\ 0 & -4\bar{p}_{cte} & 2\bar{p}_{ctd} & 0 \\ 4\bar{p}_{tt} & 4\bar{p}_{cte} & (-\bar{p}_{tt} - 2\bar{p}_{ctd} - \bar{p}_{cc}) & 4\bar{p}_{cc} \\ 0 & 0 & \bar{p}_{tt} & -4\bar{p}_{cc} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_n^1 \\ P_n^2 \\ P_n^3 \\ P_n^4 \end{bmatrix} = 0$$

Tabelle 30

Transformationsgleichung zur Beschreibung der Wahrscheinlichkeitsveränderungen von Kettenanordnungen durch Umorientierungen von Kinetochoren

$$
\begin{bmatrix} p^{I}_{n+1} \\ p^{II}_{n+1} \\ p^{III}_{n+1} \\ p^{IV}_{n+1} \\ p^{V}_{n+1} \\ p^{VI}_{n+1} \end{bmatrix} =
\begin{bmatrix}
1 - 2\bar{p}_{(tt)} - 2\bar{p}_{(dt)} & 0 & 0 & \bar{p}_{(dc)} & \bar{p}_{(cc)} & 0 \\
0 & 1 - 2\bar{p}_{(ct)} - 2\bar{p}_{(dt)} & 0 & \bar{p}_{(ct)} & \bar{p}_{(dc)} & 0 \\
0 & 0 & 1 - 2\bar{p}_{(dc)} - 2\bar{p}_{(ct)} & \bar{p}_{(dt)} & \bar{p}_{(ct)} & 0 \\
2\bar{p}_{(dt)} & 2\bar{p}_{(ct)} & 2\bar{p}_{(dc)} & 1 - \bar{p}_{(dt)} - \bar{p}_{(tt)} - \bar{p}_{(ct)} - \bar{p}_{(dc)} & 0 & 2\bar{p}_{(cc)} \\
2\bar{p}_{(tt)} & 2\bar{p}_{(dt)} & 2\bar{p}_{(ct)} & 0 & 1 - \bar{p}_{(dt)} - \bar{p}_{(ct)} - \bar{p}_{(cc)} - \bar{p}_{(dc)} & 2\bar{p}_{(dc)} \\
0 & 0 & 0 & \bar{p}_{(tt)} & \bar{p}_{(dt)} & 1 - 2\bar{p}_{(cc)} - 2\bar{p}_{(dc)}
\end{bmatrix}
\begin{bmatrix} p^{I}_{n} \\ p^{II}_{n} \\ p^{III}_{n} \\ p^{IV}_{n} \\ p^{V}_{n} \\ p^{VI}_{n} \end{bmatrix}
$$

Tabelle 31

Transformationsgleichung zur Beschreibung der Wahrscheinlichkeitsveränderungen von Trivalentanordnungen durch Umorientierungen der Kinetochoren

$$\begin{bmatrix} p^{I}_{n+1} \\ p^{II}_{n+1} \\ p^{III}_{n+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1-2\bar{p}_{(dt)} & \bar{p}_{(dc)} & \bar{p}_{(cc)} \\ -\bar{p}_{(tt)} & & \\ 2\bar{p}_{(dt)} & 1-\bar{p}_{(dt)} & 2\bar{p}_{(dc)} \\ & -\bar{p}_{(dc)} & \\ \bar{p}_{(tt)} & \bar{p}_{(dt)} & 1-2\bar{p}_{(dc)} \\ & & -\bar{p}_{(cc)} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p^{I}_{n} \\ p^{II}_{n} \\ p^{III}_{n} \end{bmatrix}$$

Tabelle 32

Die aus den Iterationsberechnungen ermittelten Werte für die Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung der Kinetochoren in den verschiedenen Positionen an den quadrivalenten Ringen

Positionen / Stamm	tt	ct_e	ct_d	cc
215	0,0001	0,005	0,025	0,186
177	0,001	0,006	0,072	0,165
181	0,001	0,009	0,135	0,138

Wenn die $\bar{p}$-Werte für die Positionen tt, ct_e, ct_d und cc bekannt sind, lassen sich daraus die $P_n^{(i)}$-Werte bestimmen, da die Determinante der Koeffizientenmatrix den Wert 0 hat.

Im Verlauf der Prometaphase ändern sich die Wahrscheinlichkeiten für die Anordnungen der Multivalente also in Richtung auf eine Gleichgewichtsverteilung hin, in der die Wahrscheinlichkeiten für die Anordnungen auch durch weitere Umorientierungen der Kinetochoren nicht mehr verändert werden. Damit ist nicht gesagt, daß in den Spermatocyten bis zur Metaphase tatsächlich eine solche Grenzverteilung erreicht wird. Denn bevor die Grenzverteilung des Gleichgewichts erreicht wird, kann die Anaphase einsetzen. Dieser Fall ist gleichbedeutend mit demjenigen, bei dem Umorientierungen in der sehr späten Prometaphase und Metaphase entweder sehr selten werden oder nicht mehr stattfinden, weil die Chromosomenfasern bereits so weitgehend aufgebaut sind, daß sie einer Umorientierung der Kinetochoren einen entsprechenden Widerstand entgegensetzen.

K Iterationsberechnungen zur Ermittlung der Umorientierungswahrscheinlichkeiten

Mit den durch die MARKOW-Kette formulierten Beziehungen zwischen den P_n-Werten für die Anordnungen und den $\bar{p}$-Werten für die Umorientierungen (s. Tab. 29) läßt sich im einzelnen schrittweise berechnen, wie die P_n-Werte verändert werden, wenn Umorientierungen stattfinden. Für die Iterationsberechnungen zur Bestimmung der Umorientierungswahrscheinlichkeiten wurde die Anfangsverteilung der Anordnungsfrequenzen ($P_{n=o}$) willkürlich als reine Zufallsverteilung (0,125/0,25/0,5/0,125) festgelegt. Die Größen der vier Parameter $\bar{p}_{(tt,\ ct_e,\ ct_d,\ cc)}$ über die bereits vorläufige Schätzungen vorliegen (s. S. 61 u. S. 84), wurden solange variiert, bis sie für den jeweiligen Stamm nach einigen Ereignisintervallen solche Verteilungen für die P_n-Werte der Anordnungen ergaben, daß von ihnen die beobachteten Prometaphasehäu-

figkeiten nicht mehr als zufällig abweichen, und nach weiteren Ereignisintervallen solche Verteilungen der P_n-Werte ergaben, daß von ihnen die beobachteten Häufigkeiten der Metaphase nicht mehr als zufällig abweichen. Die Übereinstimmung zwischen den berechneten Erwartungswerten für die Anordnungen und den beobachteten Häufigkeiten wurde mit χ^2 geprüft. Der Computer verkürzt die langwierige Mühe, auszuprobieren, welche Werte bei dem jeweiligen Stamm für die vier Parameter, $\bar{p}$, eingesetzt werden müssen, damit aus der willkürlich festgelegten Anfangsverteilung für die $P_{n=o}$-Werte der Anordnungen durch Umorientierungen der Kinetochoren zunächst die Prometaphaseverteilung und dann die Metaphaseverteilung errechnet wird.

Für die Ketten und für die Trivalente läßt sich in prinzipiell ähnlicher Weise eine solche Iterationsberechnung durchführen. Bei den Ketten müssen jedoch vermutlich mehr als fünf Kinetochorenpositionen unterschieden werden. Für die vielfältigeren Ereignisse des bei den Ketten komplexeren Systems reicht jedoch die Speicherkapazität des zur Verfügung stehenden Computers nicht aus. Von den Trivalenten wurden in den drei Stämmen so geringe Häufigkeiten registriert, daß der simulierte Ablauf der Umorientierungsereignisse nur unzureichend quantitativ überprüfbar ist.

Die Abbildung 16 zeigt in drei Diagrammen für die drei Mutationsstämme, in welcher Weise sich die P_n-Werte für die vier möglichen Anordnungen der Ringe durch die Folge der Ereignis-Intervalle ändern. Die Abzisse zeigt eine äquidistante Ereignisskala, für die ein Ereignisintervall so definiert wurde, daß in ihm die Summe über die 16 möglichen $\bar{p}$-Werte 1 ergibt. Die Kurven beginnen jeweils bei der Verteilung (0,125/0,25/0,5/0,125), die für die Situation zu Beginn der Spindelbildung willkürlich festgelegt wurde. Die sich aus dieser Anfangsverteilung nach Umorientierungen der Kinetochoren ergebenden Verteilungen der P_n-Werte, von denen die beobachteten Häufigkeitsverteilungen der Prometaphase bzw. der Metaphase nicht mehr als zufällig abweichen, sind durch schraffierte Felder gekennzeichnet. Außerdem ist auf der Abzisse markiert, bis zu welchem Ereignisintervall die Anordnungs-

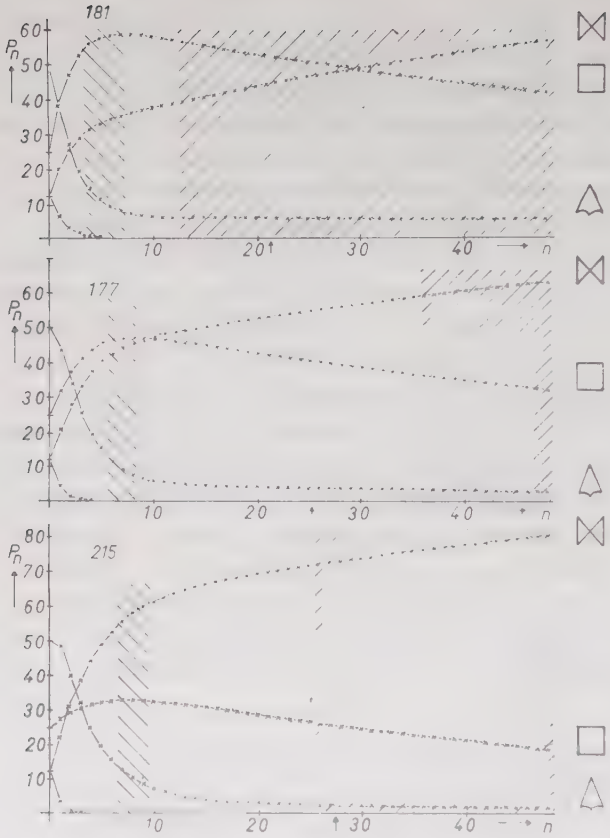

Abb. 16. Simulationskurven für die Veränderungen der Häufigkeiten von Ringanordnungen (P_n) durch Umorientierungen der Kinetochoren. Die Bereiche der Ereignisintervalle, von deren P_n-Werten die beobachteten Häufigkeiten der Prometaphase bzw. der Metaphase nicht mehr als zufällig abweichen, sind durch schraffierte Felder markiert. Der senkrechte Pfeil an der Abzisse gibt an, bis zu welchem Ereignisintervall die P_n-Werte aufsummiert werden können, so daß von den damit erhaltenen Mittelwerten die beobachteten Häufigkeiten der Prometaphase nicht mehr als zufällig abweichen. Die Umorientierungswahrscheinlichkeiten für diese Kurven gibt die Tabelle 32 an.

frequenzen, P_n, aufaddiert werden können, so daß von der Verteilung der daraus erhaltenen Mittelwerte die beobachteten Häufigkeiten der Prometaphase nicht mehr als zufällig abweichen.

Das auf eine Zelle in einem Ereignisintervall bezogene, gewogene arithmetische Mittel der Umorientierungswahrscheinlichkeiten ist in jedem folgenden Ereignisintervall kleiner als im vorhergehenden. Diese Größe kann benutzt werden, um den Erwartungswert für die mittlere Zahl der Umorientierungen pro Zelle zwischen zwei beliebigen Verteilungen der P_n-Werte zu berechnen. Unter Zugrundelegung der aus der Iteration ermittelten Werte kann damit gezeigt werden, daß zwischen den Zufallsverteilungen und den Prometaphaseverteilungen mehr Umorientierungen pro Zelle zu erwarten sind als zwischen den Prometaphase- und den Metaphaseverteilungen, obwohl die Zahl der Ereignisintervalle zwischen der Zufallsverteilung und den Prometaphaseverteilungen kleiner ist als die zwischen den Prometaphase- und den Metaphaseverteilungen.

Die Tabelle 32 zeigt die aus den Iterationsberechnungen bestimmten $\bar{p}$-Werte für die vier Kinetochorenpositionen der drei Mutationsstämme. Es sind diejenigen Werte, mit denen der simulierte Ablauf von der Zufallsverteilung über die Prometaphase- zur Metaphaseverteilung durchgeführt werden konnte. Ordnet man die $\bar{p}$-Werte nach ihrer Größe an, dann ist die Reihenfolge tt, ct_e, ct_d, cc in den drei Mutationsstämmen gleich.

In der Tabelle 32 sind die drei Mutationsstämme in der Reihenfolge 215, 177, 181 aufgeführt; in dieser Reihenfolge der Stämme nehmen die $\bar{p}$-Werte der vier Positionen entweder zu oder ab. Diese Reihenfolge der Mutationsstämme war auch schon bei der Schätzung der Disjunktionsfrequenzen festgestellt worden, als die Häufigkeit all der Multivalentanordnungen, deren Kinetochoren in der Metaphase alternierend zu den beiden Polen der Spindel orientiert sind, zwischen den Stämmen verglichen wurde (s. S.44 u. Tab. 12).

Weil für die $\bar{p}$-Werte die Signifikanz der Unterschiede zwischen den Stämmen nicht ohne weiteres geprüft werden kann, werden nur die deutlichsten Unterschiede zwischen den Stämmen betrachtet. Den deutlichsten Unterschied zwischen den Stämmen zeigt die Größe des $\bar{p}_{(ct_d)}$-Werts. In der Reihenfolge der Stämme 215, 177, 181 wird der $\bar{p}_{(ct_d)}$-Wert größer und dem $\bar{p}_{(cc)}$-Wert ähnlicher.

Nach der Analyse der Paarungsverbandshäufigkeiten und nach den Messungen des Interkinetochorabstands an der Kette in der Anordnung (1/2/1) war erkannt worden, daß in den beiden Stämmen 177 und 181 der Ring deutlich unsymmetrischer gebaut ist als im Stamm 215 (vgl. Abb. 5) und daß die Gestalt der Ringe in den beiden Stämmen 177 und 181 voneinander kaum zu unterscheiden sind. Bei der deltaförmigen Anordnung des Rings befindet sich immer entweder das durch die Translokation verkürzte oder das verlängerte Chromosomenstück zwischen zwei der drei zum gleichen Pol orientierten Kinetochoren. In den beiden Stämmen 177 und 181 kann zwischen diesen beiden Kinetochoren auch jener Interkinetochor-Bereich liegen, der von den beiden kurzen Armen des submediokinetischen Chromosomenpaars gebildet ist. Das läßt vermuten, daß es die auf den Kinetochor in der Position ct_d einwirkenden Scherungskräfte sind, durch welche seine Umorientierungswahrscheinlichkeit erhöht wird. Es kann allerdings nicht erkannt werden, ob der in den beiden Stämmen 177 und 181 erhöhte Wert für $\bar{p}_{(ct_d)}$ dadurch zustande kommt, daß das diesem Kinetochor benachbarte Chromosomenstück verlängert ist, oder dadurch, daß es verkürzt ist. Auch die Frage, ob die Umorientierungswahrscheinlichkeit von Kinetochoren dadurch erhöht wird, daß bei längeren Interkinetochorabständen die Kinetochoren in eine größere Polnähe gelangen können (vgl. DIETZ, in Vorbereitung), kann aus der vorliegenden Analyse der Anordnungshäufigkeiten von Quadrivalenten nicht beantwortet werden.

Um den Einfluß der Interkinetochorabstände auf die Umorientierungswahrscheinlichkeit der Kinetochoren eindeutig zu bestimmen, müßte die Lage der translozierten Chromosomensegmente an den quadrivalenten Paarungsverbänden in der Prometaphase eindeutig

erkannt werden können; d.h., es müßten durch irgendeine Markierung, die vielleicht autoradiographisch möglich wäre, die 16 möglichen Kinetochorenpositionen voneinander unterschieden werden können. Bei den quadrivalenten Ringen und Ketten wären dadurch je acht Anordnungen voneinander unterscheidbar (s. Tab. 21A), deren Häufigkeitsveränderungen dann zu analysieren wären.

IV. DISKUSSION

A Die Umorientierung der Kinetochoren

Den ersten Hinweis auf das Phänomen der Umorientierung von Kinetochoren gab CLELAND (1929) in seiner Arbeit über das Verhalten der Chromosomen in Pollenmutterzellen einiger Stämme von Oenothera lamarckiana. Obwohl er in dieser frühen Arbeit ausdrücklich feststellte, daß "some chromosomes undoubtedly lose their temporary connection with fibers from one pole and become attached to others leading in the opposite direction, so that in time the regular zigzag arrangement is attaint", wird dieser Befund in seinem Forschungsbericht zur Cytogenetik von Oenothera (CLELAND, 1962) nicht mehr erwähnt. Unabhängig von CLELANDs früher Beobachtung hat dann nach einem vorausgehenden Hinweis von WHITE (1941) zunächst HUGHES-SCHRADER (1943) an Spermatocyten der Mantide Stagmomantis carolina gezeigt, daß sich die Kinetochoren des trivalenten XXY-Chromosoms während der Prometaphase umorientieren. Weitere Nachweise durch Untersuchungen an fixiertem Material folgten von INAMDAR (1949) an den XXY-Chromosomen der Mantide Hierodula sp. und von SYBENGA (1968) an den quadrivalenten Ringen und Ketten von translokationsheterozygotem Secale sereale.

Von ersten Beobachtungen der Kinetochorenumorientierungen an lebenden Spermatocyten der Heuschrecken Chloealtis genicularibus und Chrysochraon japonicus berichtet SHIMAKURA (1957 a, b). DIETZ (1958) hat in der Diskussion seiner Prometaphase-Metaphase-Hypothese auf die Bedeutung der Kinetochorenumorientierung nachdrücklich hingewiesen und auch von Lebendbeobachtungen an Tipuliden berichtet. Ausführliche Untersuchungen dieses Phänomens an lebenden Zellen haben dann NICKLAS (1961) und BAUER, DIETZ und RÖBBELEN (1961) publiziert. NICKLAS beschrieb die Kinetochorenumorientierung des univalenten X-Chromosoms von Melanoplus differentialis und stellte dabei fest,

daß das X-Chromosom im Verlauf der Prometaphase sich mehrmals, jeweils in der Nähe eines Pols umorientiert und zum gegenüberliegenden Pol der Spindel wandert. An Mutationsstämmen mit einer Y-Autosomen-Translokation von Tipula oleracea haben BAUER, DIETZ und RÖBBELEN beschrieben und gemessen, wie sich die Kinetochoren von Univalenten, Bivalenten und verschiedenen Trivalenten in den Spermatocyten umorientieren. Sie haben auch als erste beschrieben, daß nach einigen Umorientierungen schließlich ein Übergang zu amphiteler Orientierung erfolgen kann (s. S. 30). Dieser Übergang zu amphiteler Orientierung ist für die beiden univalenten Geschlechtschromosomen der Tipuliden typisch. Wie DIETZ (1969 und in Vorbereitung) ausführlich berichtet, wird amphitele Orientierung nicht nur bei univalenten Geschlechtschromosomen gefunden. Wenn nämlich Autosomen als Univalente oder als Partner von multivalenten Paarungsverbänden vorliegen, dann erfolgt auch bei ihnen vor dem Beginn der Anaphase Übergang zu amphiteler Orientierung, und zwar bei Univalenten fast immer und bei Partnern eines multivalenten Paarungsverbands gelegentlich (s. Abb. 8 und Tab. 10). Die Umorientierung eines Kinetochors und der Übergang zu amphiteler Orientierung haben vermutlich die gleiche Ursache; DIETZ (1969) bezeichnet die diesen Ereignissen vorausgehende Situation als Desorientierung.

NICKLAS und seine Schule haben mit dem Mikromanipulator Kinetochoren in lebenden Zellen von Melanoplus differentialis und von Gryllotalpa hexadactyla experimentell umorientiert. In den Spermatocyten von M. differentialis gelang es NICKLAS (1967), durch kräftiges Rütteln mit der Mikronadel senkrecht zur Richtung der Faserstruktur die Kinetochoren einzelner Chromosomen von ihren Faserverbindungen zu trennen und damit Umorientierungen auszulösen. Von besonderem Interesse sind die von CAMENZIND und NICKLAS (1968) indirekt induzierten Umorientierungen des univalenten X-Chromosoms von G. hexadactyla: in der Metaphase I dieser Spezies ist das X-Chromosom regelmäßig zum gleichen Pol orientiert wie die größere Dyade des heteromorphen Bivalents; nach experimenteller Umorientierung des X-Chromosoms

erfolgte selbsttätige Umorientierung dieses Chromosoms zu seinem alten Pol; nach experimenteller Umorientierung des heteromorphen Bivalents erfolgte Umorientierung des X-Chromosoms, so daß ebenfalls wieder das X-Chromosom und die größere Dyade des heteromorphen Bivalents zum gleichen Pol orientiert waren; nach vollständiger Entfernung des heteromorphen Bivalents aus der Spindel orientierte sich das X-Chromosom zweimal um und war dann wieder auf seinen alten Pol orientiert.

B Die Regulation der Chromosomenanordnung

Obwohl das Phänomen der Umorientierung von Kinetochoren in der Cytologie bisher relativ selten beachtet wurde, ist es vermutlich in der Meiose höherer Organismen weit verbreitet. Die Umorientierung von Kinetochoren ist bisher an botanischen und zoologischen Objekten, an univalenten und multivalenten Geschlechtschromosomen sowie an Autosomen nachgewiesen worden. Mit der in dieser Arbeit vorgelegten Analyse konnte gezeigt werden, daß die Umorientierungen in der Prometaphase Elementarereignisse eines Regulationsmechanismus sind, der zur Erhöhung der Disjunktionsfrequenzen führt.

Die erste Orientierung eines Kinetochors zum einen oder anderen Pol der Spindel erfolgt offenbar zufällig. Diese Zufälligkeit setzt voraus, daß keine primären Beziehungen zwischen bestimmten Kinetochoren und bestimmten Polen bestehen und daß sich die Chromosomen unmittelbar vor der Spindelbildung in einer spannungsfreien Lage im Kernraum befinden. Die bekannten Fälle von preferential segregation wie etwa der des knobtragenden Chromosoms Nr. 10 vom Mais, das vorzugsweise in die basale Megaspore gelangt (RHOADES, 1952), zeigen allerdings, daß Beziehungen zwischen bestimmten Kinetochoren und bestimmten Polen nicht generell ausgeschlossen werden können. Daß die erste Orientierung eines Kinetochors auf den einen oder den anderen Pol der Spindel bei den genannten Voraussetzungen zufallsgemäß erfolgt, belegen

auch die von NICKLAS (1967) mit dem Mikromanipulator an den Spermatocyten von Melanoplus durchgeführten Experimente: Der Kinetochor eines Chromosoms, das von seinen Faserverbindungen getrennt worden war und das sich außerhalb der Spindel in so spannungsfreier Lage befand, daß es leicht bewegt werden konnte, orientierte sich zu dem Pol, zu dem der Winkel zwischen der Verbindungslinie Pol-Kinetochor und der Symmetrieachse durch den Kinetochor kleiner war. Die Entfernung des Kinetochors vom Pol spielte für die Wahl der Orientierungsrichtung keine Rolle.

Durch eine Folge von Umorientierungen der Kinetochoren, die unmittelbar mit dem Beginn der Spindelbildung einsetzt, werden bis zur Metaphase solche Anordnungen der Chromosomen häufiger, in denen die Kinetochoren alternierend auf die beiden Pole orientiert sind. In der Anaphase werden dann vollständige Chromosomenkomplemente verteilt. Die größeren Disjunktionsfrequenzen nach Umorientierungen der Kinetochoren bei Oenothera lamarckiana (CLELAND, 1929), bei den Mantiden Stagmomantis carolina und Hierodula sp. (HUGHES-SCHRADER, 1943; INAMDAR, 1949) und bei den Quadrivalenten der Translokationsheterozygoten von Secale cereale (SYBENGA, 1968) lassen vermuten, daß auch in diesen Fällen eine solche Regulation der Chromosomenanordnungen stattfindet, wie sie bei den Quadrivalenten von Pales ferruginea aufgezeigt wurde. Dieser Regulationsmechanismus wirkt nach stochastischen Gesetzmäßigkeiten; sein Ablauf kann mit einer MARKOW-Kette beschrieben werden (s. S. 88). Mit dieser allgemeinen Beschreibung ist es möglich, den Prozeß in seinen quantitativen Variationen durch Simulationsrechnungen nachzuvollziehen (s. Abb. 16). Durch Iterationsberechnungen können dann die Wahrscheinlichkeitswerte für die Umorientierungen der Kinetochoren in bestimmten Positionen ermittelt werden (s. Tab. 32).

Mit einer einfachen Überlegung läßt sich unmittelbar plausibel machen, daß auch Bivalente durch Umorientierungen der Kinetochoren in der frühen Prometaphase zu ihrer allgemein bekannten Koorientierung in der Metaphase gelangen: Bei annähernd spannungsfreier Lage der Chromosomen zum Zeitpunkt der Kernmembranauf-

lösung und daher anfänglich zufälliger Orientierung eines Kinetochors zu einem Pol der Spindel sind in der Hälfte aller Fälle die Bivalente von vornherein koorientiert. Bei den übrigen Bivalenten, deren Kinetochoren zunächst beide auf den gleichen Pol der Spindel orientiert sind, erfolgt dann durch Umorientierung eines ihrer Kinetochoren Koorientierung, in der die Umorientierung sehr unwahrscheinlich ist. Mit den Iterationsberechnungen sind für die Kinetochoren in den Positionen tt und cc extrem unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten zur Umorientierung ermittelt worden (s. Tab. 32). Daher ist es verständlich, daß der zur Koorientierung der Bivalente führende Prozeß sehr schnell beendet ist und nur in sehr wenigen Zellen der frühen Prometaphase solche Bivalente tatsächlich gefunden werden, deren beide Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind (vgl. Abb. 6h).

Die Koorientierung der Bivalente ist also verständlich als das für Bivalente spezielle Ergebnis eines im Spindelapparat allgemein ablaufenden stochastischen Prozesses von Umorientierungen, der zu alternierender Orientierung der Kinetochoren führt. Für Bivalente ist diese 'alternate-orientation' die Koorientierung.

1958 hatte DIETZ bereits darauf hingewiesen, daß die Entstehung der Koorientierung durch Kinetochorenumorientierung erklärt werden kann; denn in lebenden Spermatocyten von Tipula caesia war beobachtet worden, daß in einigen Zellen der frühen Prometaphase beide Bivalentkinetochoren zum gleichen Pol orientiert waren; nach der Umorientierung eines Kinetochors wurde dann die Koorientierung des Bivalents erreicht, in der die Kinetochoren orientierungsstabil waren. Mit diesen Beobachtungen war ÖSTERGRENs (1951) mechanistischer Erklärung der Koorientierung nachdrücklich widersprochen worden. Unter vielen hundert Bivalenten, die von DIETZ (in Vorbereitung) inzwischen an den Tipuliden beobachtet wurden, sind nur drei Fälle registriert worden, in denen sich der Kinetochor eines koorientierten Bivalents umorientierte und das Bivalent vorübergehend von der bipolaren Orientierung in die unipolare Orientierung überging. WHITE (1954) berichtet allerdings von Bivalenten überzähliger Chromosomen

der Heuschrecken Trimerotropis sparsa und Circotettix thalassimus, bei denen beide Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind. Diese Orientierungsweise führt dazu, daß in der Population die überzähligen Chromosomen in variierender, aber nur gerader Anzahl auftreten. NICKLAS und KOCH (persönliche Mitteilung) ist es gelungen, unipolar orientierte Bivalente bei Melanoplus in ihrer Orientierung dadurch zu stabilisieren, daß sie ein solches Bivalent mit der Nadel des Mikromanipulators zum Gegenpol zogen; durch diesen Zug mit der Mikronadel hatte das Bivalent in der Spindel die Gestalt eines V-förmigen Trivalents und nachweislich auch dessen Stabilität; erst nach Beendigung des Zugs hatte das Bivalent wieder seine alte Instabilität und ein Kinetochor orientierte sich nach kurzer Zeit um.

Die Umorientierung des X-Chromosoms bei Gryllotalpa nach den von CAMENZIND und NICKLAS (1968) experimentell ausgelösten Fehlorientierungen zeigen die Wirkung eines besonderen Falls von Regulation der Chromosomenanordnung, die zur preferential segregation führt. Besondere Leistungen des Spindelapparats zeigen auch die Verteilungsmechanismen bei multiplen Geschlechtschromosomen (s. DIETZ, 1958; WHITE, 1954), die auch dann gerichtet verteilt werden können, wenn sie wie im Beispiel Omophoita in der Spindel als drei syntel orientierte Univalente vorliegen (VIRKKI, 1967).

Die Verteilung univalenter Chromosomen ist von DIETZ (1969 und in Vorbereitung) an Tipuliden ausführlich untersucht worden. Auch hier kann ein, für Wildstammspermatocyten geltender, auf Zufallsereignissen beruhender Regulationsmechanismus erkannt werden. Weil zwei syntel orientierte Univalente unabhängig von der Zahl der Umorientierungen zufallsgemäß verteilt werden und dadurch in der Hälfte der Fälle Nondisjunktion erfolgen würde, ist der Übergang zu amphiteler Orientierung Voraussetzung für die Disjunktion der beiden Univalente. Der Übergang zu amphiteler Orientierung findet nach einer variierenden Zahl von Umorientierungen in der späten Prometaphase und Metaphase statt; dieser Übergang zu amphiteler Orientierung ist offenbar irre-

versibel. Im zweiten Teil der Anaphase werden dann zwei amphitel orientierte Chromosomen zu Gegenpolen verteilt. Wenn mehr als zwei amphitel orientierte Chromosomen vorliegen, werden die homologen oder partiell homologen Chromosomen nur dann zu Gegenpolen verteilt, wenn sie ein solches Paar sind, das gleichzeitig zu den Polen wandert. Bei den Tipuliden, bei denen der Übergang zu amphiteler Orientierung Voraussetzung für die richtige Verteilung der beiden Geschlechtschromosomen ist, ist amphitele Orientierung auch bei den Kinetochoren von autosomalen Univalenten und von Multivalenten gefunden worden (s. Abb. 8 und Tab. 10). Bei den Tipuliden haben also die Kinetochoren aller Chromosomen die Möglichkeit, sowohl die syntele als auch die amphitele Orientierung einzunehmen.

Für die Autosomen, die normalerweise bivalente Paarungsverbände bilden, ist der Übergang zu amphiteler Orientierung dann möglich, wenn sie als Univalente oder in multivalenten Paarungsverbänden vorliegen. Die Geschlechtschromosomen dagegen, die normalerweise als Univalente vorliegen, verbleiben dann häufig in synteler Orientierung, wenn sie Partner in einem Paarungsverband sind (BAUER, DIETZ und RÖBBELEN, 1961; DIETZ, 1969 und in Vorbereitung). Der auf den Ereignissen der Umorientierung und des Übergangs zu amphiteler Orientierung beruhende Mechanismus, durch den vollständige Disjunktion erreicht wird, wirkt also unter diesen Bedingungen nicht fehlerfrei. Der Übergang zu amphiteler Orientierung an den multivalenten Paarungsverbänden kann demnach als Fehlleistung des meiotischen Spindelapparats verstanden werden.

Gerade diese Fehlleistungen des meiotischen Spindelapparats zeigen, daß die Chromosomen allein auf Grund ihrer Zugehörigkeit zu einem Paarungsverband bzw. ihrer Univalenz in der Metaphasespindel angeordnet und in der Anaphase dann zu den Polen verteilt werden. Offenbar liegt diesen Chromosomenverteilungen ein gemeinsamer Mechanismus zugrunde. Dieser Mechanismus arbeitet offensichtlich am besten mit Bivalenten und mit ein bis zwei Univalenten, - dem in der Natur häu-

figsten meiotischen Chromosomenbestand. Die Evolution hat dazu geführt, daß dieser Mechanismus nicht nur den Chromosomenbestand des Wildtyps richtig verteilt, sondern auch die durch Mutation veränderten Chromosomenbestände oft annähernd richtig verteilt. Die dadurch mögliche hohe Disjunktionsfrequenz bei Translokationsheterozygoten kann zur Bildung von Translokationshomozygoten in Wildpopulationen führen, - ein Prozeß, der für die Evolution wahrscheinlich von großer Bedeutung ist, wie die Artbildungen durch Translokationen ganzer Chromosomenarme bei Drosophila (PATTERSON a. STONE, 1952), bei Orthopteren (WHITE, 1954) und bei Chironomus (KEYL, 1962) zeigen.

C Einflüsse auf die Umorientierungswahrscheinlichkeit

Die Ursache für das Ereignis der Umorientierung eines Kinetochors ist unbekannt. Es lassen sich allerdings Bedingungen aufzeigen, unter denen dies Ereignis mit bestimmter Wahrscheinlichkeit auftritt. Die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung wird stark beeinflußt von der Zugspannung der kontraktilen Chromosomenfasern; sie kann modifizierend beeinflußt werden von 1. dem Winkel, unter dem diese Zugspannung an den Kinetochoren ansetzt bzw. den Scherungskräften, die den Kinetochor von seinem Pol abwenden; 2. dem Kinetochor-Pol-Abstand; 3. der Zeitdauer der Orientierung; weiterhin muß angenommen werden, daß auch chromosomenspezifische und artspezifische Faktoren eine modifizierende Rolle spielen.

Die zwischen der Prometaphase und der Metaphase registrierten Häufigkeitsveränderungen der Multivalentanordnungen sind widerspruchsfrei erklärbar mit der Annahme, daß die Kinetochorenorientierungen dann am stabilsten sind, wenn die kontraktilen Chromosomenfasern der benachbarten, zu Gegenpolen orientierten Kinetochoren wechselseitige Zugspannung aufeinander ausüben (s. S. 78). Für eine quantitative Bestimmung der Umorientierungs-

wahrscheinlichkeiten sind daher die Kinetochoren in ihren Positionen an den Multivalenten danach bezeichnet worden, zu welchem Pol - trans oder cis - die benachbarten Kinetochoren orientiert sind (s. S. 79). Mit den Iterationsberechnungen konnten dann für die so bezeichneten Kinetochorenpositionen $\bar{p}$-Werte für die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung ermittelt werden. An den Größen dieser $\bar{p}$-Werte (s. Tab. 32), die in den drei Stämmen in der gleichen Reihenfolge zunehmen, kann direkt erkannt werden, welchen quantitativen Einfluß die Zugspannung der Chromosomenfasern auf die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung der Kinetochoren hat. Die Umorientierung eines Kinetochors ist extrem unwahrscheinlich, wenn die beiden im Paarungsverband benachbarten Kinetochoren zu Gegenpolen orientiert sind. Wesentlich grösser ist die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung, wenn einer oder sogar beide benachbarten Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind.

Mit einer einfachen Überlegung konnte gezeigt werden, daß zwischen den beiden cis-trans-Positionen am ebenen Ring und an der deltaförmigen Anordnung (ct_e und ct_d) unterschieden werden muß (s. S. 86). Diese Tatsache zeigt, daß die Zugspannung nicht allein die Umorientierungswahrscheinlichkeit bestimmt. Offenbar werden diese Unterschiede dadurch hervorgerufen, daß der Einfluß der Zugspannung modifiziert wird durch den Winkel, unter dem die Zugspannung der kontraktilen Chromosomenfasern am Kinetochor ansetzt. Die Unterschiede zwischen den Positionen ct_e und ct_d können zum Teil auch dadurch bedingt sein, daß die benachbarten Kinetochoren, die zum gleichen Pol orientiert sind, durch Scherungskräfte der zwischen ihnen liegenden Chromosomenstrecken von ihrem Pol verschieden stark abgewandt werden. Die beiden letztgenannten Faktoren können auch zur Erklärung der Häufigkeitsunterschiede zwischen den drei Stämmen benutzt werden. Für eine detaillierte Aufklärung dieser Einflüsse müßten allerdings die 16 möglichen Kinetochorenpositionen eindeutig unterscheidbar sein (vgl. S. 98/9).

Ein Einfluß der Zugspannung der kontraktilen Chromosomenfasern auf die Orientierungsstabilität der Kinetochoren war zuerst von DIETZ (1958) vermutet worden. Nach den Untersuchungen der Chromosomenbewegung in lebenden Tipulidenspermatocyten stellten BAUER, DIETZ und RÖBBELEN (1961) fest, daß mechanische Wechselwirkungen zwischen allen Kinetochoren eines Paarungsverbandes die Häufigkeit der Umorientierungen beeinflussen können und daß die Zugspannung, welche die Chromosomenfasern antagonistisch orientierter Kinetochoren aufeinander ausüben, für die Orientierungsstabilität von Bedeutung ist. NICKLAS und KOCH (persönliche Mitteilung) haben, wie bereits erwähnt, die Stabilität der Kinetochorenorientierung durch Zugspannung mit dem Mikromanipulator direkt nachweisen können (s. S. 105).

Aus den Daten von Lebendbeobachtungen, bei denen Zeit und Ort einer Umorientierung direkt registriert werden, sind Auskünfte darüber zu erhalten, welchen Einfluß die Zeitdauer der Orientierungen und die Lage der Chromosomen in der Spindel auf die Umorientierungen haben. BAUER, DIETZ und RÖBBELEN (1961) und DIETZ (in Vorbereitung) haben gefunden, daß die Umorientierungen der Kinetochoren bei Tipuliden bevorzugt in Polnähe erfolgt. Die größere Häufigkeit von Umorientierungen bei geringerem Abstand der Kinetochoren von ihrem Pol ist besonders deutlich an den Univalenten nachweisbar. Auch bei Melanoplus hatte NICKLAS (1961) gefunden, daß das univalente X-Chromosom bei seinen Wanderungen von Pol zu Pol sich jeweils in der Nähe des Spindelpols umorientiert.

NICKLAS und KOCH halten diese große Umorientierungswahrscheinlichkeit in der Polnähe für ein Sekundärphänomen, das sich bei fehlender Zugspannung einstellt. An unipolar orientierten Bivalenten haben sie nämlich festgestellt, daß die Häufigkeit zur Umorientierung eines Kinetochors in der Nähe des Pols nicht größer ist als in der Äquatorialregion.

Ein weiterer Faktor, der die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung modifizierend beeinflußt, ist vermutlich die Länge der Zeit, die ein Kinetochor auf einen Pol bereits orientiert ist.

DIETZ (in Vorbereitung) hat deutliche Belege dafür gefunden, daß die Umorientierung umso seltener ist, je länger ein Chromosom in einer einmal eingenommenen Orientierung vorliegt und je länger damit der vom Kinetochor induzierte Aufbau der Chromosomenfaser fortgeschritten ist: die beiden univalenten Geschlechtschromosomen können in der frühen Prometaphase vorübergehend ein Pseudobivalent bilden; die syntele Orientierung, die sie als Partner des koorientierten Pseudobivalents einnehmen, bleibt dann auch nach ihrer Trennung zu Univalenten häufig über lange Zeit erhalten. NICKLAS und KOCH berichten von einem ähnlichen Phänomen bei den durch experimentelle Zugspannung stabilisierten, unipolar orientierten Bivalenten: nach Beendigung der Zugspannung, mit der die Kinetochoren über sehr lange Zeit in ihrer Orientierung gehalten wurden, verblieben die Kinetochoren in ihrer unipolaren Orientierung durchschnittlich länger als vor dem experimentellen Eingriff.

Zur Aufstellung der MARKOW-Kette (s. S. 88) ist vorausgesetzt worden, daß die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung unabhängig davon sei, ob der Kinetochor aktiv oder passiv in seine Position gekommen ist und welche Position er vorher innehatte. Damit ist angenommen worden, daß die Zeitdauer der Kinetochor-Pol-Verbindung einen in erster Näherung vernachlässigbar geringen Einfluß auf die Umorientierungswahrscheinlichkeit habe. Weil es mit Hilfe der MARKOW-Kette möglich ist, den Prozeß der prometaphasischen Umorientierungen an den quadrivalenten Ringen in seinem Ablauf so zu simulieren, daß die damit berechneten Frequenzen der Anordnungen mit den beobachteten Häufigkeiten in der Prometaphase und der Metaphase übereinstimmen, kann gesagt werden, daß bei der betrachteten Population von Chromosomenanordnungen die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung von der Zugspannung der Chromosomenfasern im Mittel stärker beeinflußt wird als von der Zeitdauer der Kinetochor-Pol-Verbindung.

Genauere Auskunft darüber, welchen quantitativen Anteil die beiden Faktoren auf die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung haben, könnte die folgende Beobachtungsserie an lebenden Zellen

geben: Nach der Umorientierung eines Kinetochors am ebenen Ring entsteht die deltaförmige Anordnung; von den drei der nun zum gleichen Pol orientierten Kinetochoren sind zwei in der gleichen Position, nämlich ct_d; einer dieser beiden ist mit seinem Pol aber schon längere Zeit verbunden, während der andere sich eben neu orientiert hat und eine neue Chromosomenfaser aufbaut; die zwei Kinetochoren, die ihre alte Faserverbindung zum Pol beibehalten haben, befinden sich in verschiedenen Positionen, nämlich cc und ct_d. Durch Auszählen der Häufigkeiten, mit welchen sich einer der drei Kinetochoren zuerst umorientiert, müßte es möglich sein, Auskunft darüber zu erhalten, in welchem quantitativen Verhältnis die beiden zur Diskussion stehenden Faktoren die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung beeinflussen. Zur genaueren Beurteilung des Zeitfaktors ließe sich vielleicht auch die Umorientierung des Kinetochors an einem möglichst symmetrisch gebauten Ring wie etwa im Stamm 215 mit dem Mikromanipulator auslösen.

Die Umorientierung wird sicherlich auch von chromosomenspezifischen und von artspezifischen Faktoren beeinflußt: Auf Grund der chromosomenspezifischen Faktoren orientieren sich z.B. bei den Tipuliden die Geschlechtschromosomen unter gleichen Bedingungen häufiger um als die Autosomen (DIETZ, in Vorbereitung). Der Einfluß artspezifischer Faktoren wird z.B. daran deutlich, daß das univalente Geschlechtschromosom bei Melanoplus im Gegensatz zu den Univalenten der Tipuliden nicht in amphitele Orientierung übergeht. Die Experimente und Beobachtungen an Gryllotalpa (CAMENZIND, a. NICKLAS, 1968) zeigen, daß auch noch weitere Faktoren die Umorientierung von Kinetochoren beeinflussen müssen; denn die indirekt ausgelösten Umorientierungen des X-Chromosoms können mit den bisher diskutierten Faktoren nicht erklärt werden.

Der von den Kinetochoren induzierte Aufbau der Chromosomenfasern (vgl. DIETZ, 1959, 1963, 1964, 1969 und in Vorbereitung; INOUE, 1959, 1964; INOUE, a. SATO, 1967) wird also offensichtlich dann wesentlich gefördert, wenn diese Chromosomenfasern unter Zugspannung stehen. Eine große Zugspannung hat eine große Stabilität der Chromosomenfaser zur Folge; ist die Zugspannung gering,

so ist auch die Stabilität der Chromosomenfaser gering: der Kinetochor orientiert sich leicht um und induziert zum Gegenpol den Aufbau einer neuen Chromosomenfaser. Im Verlauf der Prometaphase erfolgt auf diese Weise eine Auswahl der orientierungsstabilen Chromosomenanordnungen, die - und darin liegt das Resultat der Regulation - in erhöhter Häufigkeit solche Anordnungen sind, die eine vollständige Disjunktion des Chromosomensatzes in der Anaphase zur Folge haben.

D Zufallsmodelle

Die klassischen Bezeichnungen 'alternate-orientation' und 'adjacent-orientation I, II' (McCLINTOCK, 1945, s. S. 37) sind im analytischen Teil der Arbeit nicht benutzt worden. McCLINTOCK hatte mit ihrer Arbeit über Neurospora crassa diese Bezeichnungen nicht nach der Beobachtung von Quadrivalentanordnungen in der Metaphasespindel, sondern nach Folgerungen aus der Tetradenanalyse in die Literatur eingeführt. Die 1:3-Anordnungen, die den beiden klassischen Anordnungstypen nicht zugeordnet werden können, werden zwar in der Metaphase relativ selten gefunden; durch die Analyse der Häufigkeitsveränderungen von der Prometaphase zur Metaphase (s. S. 76) konnte jedoch gezeigt werden, daß gerade diese 1:3-Anordnungen in der Prometaphase als Übergangsanordnungen von zentraler Bedeutung für den Prozeß sind, durch den die Metaphasehäufigkeiten erreicht werden.

Bei der Vielfalt der Faktoren, von denen die Umorientierungen der Kinetochoren und damit die Häufigkeiten der Anordnungen in der Metaphase beeinflußt werden können, überrascht es nicht, daß die alternierenden Anordnungen der Multivalente in vielen Fällen mit großer Häufigkeit, in vielen anderen mit geringer Häufigkeit gefunden werden (s. z.B. die Forschungsberichte von BURNHAM, 1956; und von JOHN a. LEWIS, 1965). Zur Beurteilung der Disjunktionsfrequenzen bei Translokationsheterozygoten

wird gewöhnlich das Häufigkeitsverhältnis der alternierenden Anordnungen zur Summe der beiden Adjacentanordnungen benutzt. Der Anteil von 50 % alternierender Anordnungen entspricht dem Disjunktionsverhältnis, das auch bei ausschließlicher Bivalentbildung und bei unabhängiger Koorientierung dieser Bivalente zu erwarten ist. Bei weniger als 50 % alternierender Anordnungen in der Metaphase ist die Multivalentbildung für die Mutante in der Population ungünstiger als die Bivalentbildung. Bei mehr als 50 % alternierender Anordnungen ist die Quadrivalentbildung günstiger als die Bivalentbildung; und je mehr Quadrivalente in diesen Fällen gebildet werden, umso größer ist dann die Disjunktionsfrequenz. Eine hohe Disjunktionsfrequenz kann wie bei Secale auch das Ergebnis von Selektion sein (AHLOOWAHLIA, 1962; LAWRENCE, 1958, 1963; THOMPSON, 1956). Soweit eine Selektion auf größere Häufigkeit von Quadrivalentbildungen, wie sie bei tetraploidem Lolium gefunden wurde (CROWLEY a. REES, 1968), ausgeschlossen werden kann, liegt in den genannten Fällen eine Selektion auf Erhöhung der alternierenden Anordnungen vor.

Die beobachteten Häufigkeiten der 'alternate'- und der 'adjacent'-Anordnungen werden oft mit Erwartungswerten verglichen, die sich aus einem Modell zufälliger Orientierung ergeben. JOHN und LEWIS (1965) diskutieren, ob diese beiden Anordnungen bei zufälliger Orientierung in einem 1:1- oder in einem 1:2-Verhältnis zu erwarten sind. Gegen das 1:2-Verhältnis, das z.B. von LaCHANCE, RIEMANN und HOPKIN (1964) und von JONES (1964) angenommen wird, wenden JOHN und LEWIS ein, daß die Permutation bei der alternierenden Anordnung ebenfalls zu beachten sei; denn auch die alternierende Anordnung könne in zweierlei Weise vorliegen (s. auch BURNHAM, 1956; u. RICKARDS, 1964). Berechtigt ist dieser Einwand aber nur dann, wenn das Zufallsmodell auf der Grundlage des Prinzips der Koorientierung entwickelt wird. Dem 1:2-Verhältnis aber läge, so nehmen JOHN und LEWIS an, das Prinzip der unabhängigen Univalentorientierung zugrunde. Das ist aber nicht der Fall, denn sonst müßten jene Quadrivalent-

anordnungen, in denen 3 oder 4 Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind, im Modell mit berücksichtigt sein. Im Zufallsmodell, das auf der Grundlage unabhängiger Univalentorientierung bzw. unabhängiger Kinetochorenorientierung entwickelt wird (vgl. Tab. 21), sind diese Anordnungen berücksichtigt. In diesem Modell sind von den 8 möglichen Anordnungen 4 in der Spindel unterscheidbar, die zufallsgemäß in den Verhältnissen 1:2:4:1 zu erwarten sind.

JOHN und LEWIS dagegen vertreten ein Zufallsmodell, das auf der Grundlage des Prinzips der Koorientierung der im Quadrivalent benachbarten Kinetochoren aufgestellt wurde. Auf der Grundlage dieses Prinzips sind diejenigen Anordnungen, bei denen 3 oder 4 Kinetochoren zum gleichen Pol orientiert sind, konsequenterweise als Ausnahmeerscheinungen zu betrachten, die für eine prinzipielle Diskussion ohne Bedeutung sind. Das Modell der 1:1-Verteilung ist bei den angegebenen Voraussetzungen konsequent. Als Zufallsmodell ist es jedoch schwerlich aufrecht zu erhalten, wenn Umorientierungen nachgewiesen werden. Ein Zufallsmodell muß dann auf der Grundlage unabhängiger Kinetochorenorientierung aufgestellt werden.

Umorientierungen an Quadrivalenten sind vor dieser Arbeit von SYBENGA (1968) an translokationsheterozygotem Roggen nachgewiesen worden. Leider sind dort trotz des eindeutigen Nachweises von Umorientierungen die 1:3-Anordnungen der Quadrivalente weder beobachtet noch deren Existenz als Übergangsanordnungen beachtet worden. Ohne Kenntnis der Häufigkeiten dieser 1:3-Anordnungen ist es aber nicht möglich, die in der Prometaphase stattfindenden Umorientierungsereignisse zu analysieren.und die Parameter, die den prometaphasischen Umorientierungsprozeß charakterisieren, durch Iterationsberechnungen zu ermitteln.

Bei zufälliger Orientierung der Chromosomen in der Spindel ist die alternierende Anordnung also weder mit der Wahrscheinlichkeit 1/2 noch mit der Wahrscheinlichkeit 1/3 zu erwarten. Weil aber der Anteil von 50 % alternierender Anordnungen die gleiche

Disjunktionsfrequenz ergibt, die auch bei ausschließlicher Bivalentbildung resultiert, sind die beobachteten Abweichungen vom 1:1-Verhältnis ein geeignetes Maß zur Charakterisierung der Disjunktionsfrequenz in Translokationsheterozygoten. Die Abweichungen vom 1:1-Verhältnis zeigen an, welche vorteilhafte oder nachteilige Auswirkung die Quadrivalentbildung auf die Disjunktionsfrequenz hat. Dagegen werden beim Vergleich der Beobachtungsdaten mit dem 1:2-Verhältnis Abweichungen vom Modell der Gleichverteilung jener 3 genetisch unterscheidbaren Anordnungen festgestellt, durch die gleich viele Chromosomen zu den Polen verteilt werden. Dieses Modell ist nur dann ein Zufallsmodell, wenn keine anderen Anordnungen entstehen können. Bei zufälliger Orientierung der Chromosomen in der Spindel sind diese 3 Anordnungen zwar gleich wahrscheinlich, ihr Wahrscheinlichkeitswert ist aber 1/8 und nicht 1/3 (s. Tab. 21).

Welche Bedeutung die Verwendung eines falschen Zufallsmodells, aus dem Erwartungswerte abgeleitet werden, haben kann, sei abschließend an einem Beispiel aus der Humangenetik erläutert. Eine Ursache für die Trisomie des Chromosoms Nr. 21 ist das Vorliegen einer Translokation (15/21 oder 21/22). Nondisjunktion für das Chromosom Nr. 21 erfolgt nach einer Fehlorientierung des Trivalentchromosoms in der Metaphase I (CARTER, HAMERTON, POLANI, GUNARL, a. WEILER, 1960; EBERLE, 1966; PENROSE, ELLIS, a. DELHANTY, 1960; PFEIFFER, 1968; POLANI, BRIGGS, FORD, CLARKE, a. BERG, 1960). Bei der V-förmigen Anordnung des Trivalents erfolgt Disjunktion und in die eine Tochterzelle gelangt das Translokationschromosom, mit dem die Ursache für die Trisomie in die folgende Generation vererbt wird. Bei einer der beiden stabförmigen Trivalentanordnungen erfolgt Fehlverteilung für das Chromosom Nr. 21. Bisher wird allgemein angenommen, daß das Trivalent bei der als zufällig angenommenen Orientierung in der Metaphase jeweils mit der Wahrscheinlichkeit von 1/3 in den drei Anordnungen zu erwarten ist. Demnach würden 1/6 der Gameten die Translokation übertragen; 1/6 der Gameten würden Zygoten mit der Trisomie des Chromosoms

Nr. 21 bilden. Die Erwartungswerte von jeweils 1/3 für die 3 Anordnungen sind sicherlich falsch; denn in der Metaphase sind die Chromosomen nicht mehr zufällig orientiert, wie sie es zu Beginn der Spindelbildung gewesen sein können, wo die 4 möglichen Trivalentanordnungen zufallsgemäß zu jeweils 1/4 erwartet werden können. Als Folge von Kinetochorenumorientierungen wird in der Metaphase das Trivalent wesentlich häufiger in V-förmiger Anordnung als in einer der beiden stabförmigen Anordnungen vorliegen (vgl. Abb. 15).

Für die individuellen Fälle der betroffenen Familien bedeutet das, daß unter den Geschwistern eines Trisomen und unter den Geschwistern eines der Eltern mehr Überträger der Trisomie sind, und daß das Risiko für einen Überträger, ein trisomes Kind zu bekommen, geringer ist, als man bisher annahm. Dies stimmt überein mit der Beobachtung von LENZ (1967), daß die beobachtete Häufigkeit der Trisomie unter den Geschwistern der Trisomen geringer ist, als nach der bisherigen Theorie erwartet werden konnte. Es müßte möglich sein, den tatsächlichen Erwartungswert für die Trisomie bzw. für die Überträger - und damit für die Metaphaseanordnungen des Trivalents - nach ausführlichen Familienuntersuchungen zu schätzen. Vermutlich sind die Trivalente der verschiedenen Translokationen mit verschiedenen Wahrscheinlichkeiten in der Metaphase V-förmig oder stabförmig angeordnet.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Translokationsunterschiede zwischen den 3 untersuchten Mutationsstämmen sind 1. in den Häufigkeiten der multivalenten Paarungsverbände, 2. in den Längen der Mitosechromosomen und 3. in den Längen von Interkinetochorabständen an quadrivalenten Ketten nachgewiesen worden.

Die Multivalentanordnungen sind in Prometaphase- und in Metaphasezellen gezählt worden. Die dabei registrierten Häufigkeitsveränderungen zwischen den beiden Phasen beweisen, daß sich die Kinetochoren im Verlauf der Prometaphase umorientieren. Die Häufigkeiten der Anordnungen, die zu Beginn der Spindelbildung zufällig sein können, werden durch Umorientierungen der Kinetochoren so verändert, daß die alternierenden Anordnungen immer häufiger werden; die Adjacentanordnungen können vorübergehend häufiger werden.

Die Häufigkeitsveränderungen der Quadrivalentanordnungen sind erklärbar mit der Annahme, daß die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung eines Kinetochors dann gering ist, wenn seine Faser unter Zugspannung steht. Diese Zugspannung wird von den Chromosomenfasern der benachbarten, zum Gegenpol orientierten Kinetochoren ausgeübt. Die Wahrscheinlichkeit zur Umorientierung wird durch den Winkel, unter dem die Faser am Kinetochor ansetzt, und durch Scherungskräfte am multivalenten Chromosomenverband modifizierend beeinflußt.

Zur quantitativen Bestimmung der Umorientierungswahrscheinlichkeiten sind die Positionen der Kinetochoren danach unterschieden worden, ob die benachbarten Kinetochoren zum gleichen oder zum gegenüberliegenden Pol orientiert sind, und auch danach, an welcher Anordnung eine solche Position eingenommen wird. An den quadrivalenten Ringen reicht die Unterscheidung von 4 Positionen aus, um den Prozeß der prometaphasischen Umorientierungen in einer MARKOW-Kette zu formulieren. Durch Iterationsberechnungen sind die Umorientierungswahrscheinlichkeiten für die 4 Kinetocho-

renpositionen an den Ringen der 3 Stämme ermittelt worden.

Es wird diskutiert, daß durch Umorientierungen der Kinetochoren in einem stochastischen Prozeß während der Prometaphase die Häufigkeiten der Chromosomenanordnungen so reguliert werden, daß die Metaphaseanordnungen hohe Disjunktionsfrequenzen ergeben.

VI. LITERATUR

AHLOOHWALIA, B.S.: Study of translocation in diploid rye. Genetics 33, 128-144 (1962).

BAUER, H.: Die Chromosomen von Tipula paludosa MEIG. in Eibildung und Spermatogenese. Z. Zellforsch. 14, 138-193 (1931).

-, R. DIETZ u. C. RÖBBELEN: Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. III. Mitt. Das Bewegungsverhalten der Chromosomen in Translokationsheterozygoten von Tipula oleracea. Chromosoma (Berl.) 12, 116-189 (1961).

BURNHAM, C.R.: Chromosome segregation in translocations involving chromosome 6 in maize. Genetics 35, 446-481 (1950).

- Chromosomal interchange in plants. Bot. Rev. 22, 419-552 (1956).

CAMENZIND, R., a. R.B. NICKLAS: The non-random chromosome segregation in spermatocytes of Gryllotalpa hexadactyla. Chromosoma (Berl.) 24, 324-335 (1968).

CARTER, C.O., J.L. HAMERTON, P.E. POLANI, A. GUNALP, a. S.D.V. WELLER: Chromosome translocation as a cause of familial mongolism. Lancet 1960/II, 678-680.

CLELAND, R.E.: Chromosome behaviour in the pollen mother cells of several strains of Oenothera lamarckiana. Z. ind. Abst. Vererbl. 51, 126-145 (1929).

- The cytogenetics of Oenothera. Adv. Genet. 11, 147-229 (1962).

CROWLEY, J.G., a. H. REES: Fertility and selection in tetraploid Lolium. Chromosoma (Berl.) 24, 300-308 (1968).

DARLINGTON, C.D.: Recent advances in cytology. 2. edit. London (1937).

DIETZ, R.: Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. II. Mitt. Graphische Analyse der Chromosomenbewegung während der Prometaphase I im Leben. Chromosoma (Berl.) 8, 183-211 (1956).

- Multiple Geschlechtschromosomen bei den cypriden Ostracoden, ihre Evolution und ihr Teilungsverhalten. Chromosoma (Berl.) 9, 359-440 (1958).

- Centrosomenfreie Spindelpole in Tipuliden-Spermatocyten. Z. Naturforsch. 14 b, 749-752 (1959).

- Polarisationsmikroskopische Befunde zur chromosomeninduzierten Spindelbildung bei der Tipulide Pales crocata (Nematocera). Zool. Anz., Suppl. 26, 131-138 (1963).

- The dispensability of the centrioles in the spermatocyte division of Pales ferruginea (Nematocera). In: Chromosomes Today, Suppl. Heredity 19, 161-166 (1964).

- Bau und Funktion des Spindelapparats. Naturwissenschaften 56, 237-248 (1969).

- In: Protoplasmatologia. Springer, Wien - New York (in Vorbereitung).

EBERLE, P.: Chromosomenstruktur des Menschen in Mitosis und Meiosis. Fischer, Stuttgart (1966).

FELLER, W.: An introduction to propability theory and its applications. Vol. 1. Wiley, New York - London 2. edit. (1957).

FORER, A.: Local reduction of spindle fiber birefringence in living Nephrotoma suturalis (LOEW) spermatocytes induced by ultraviolet microbeam irradiation. J. Cell. Biol. 25, 95-117 (1965).

FROST, A.A. u. R.G. PEARSON: Kinetik und Mechanismen homogener chemischer Reaktionen. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1964).

HUGHES-SCHRADER, S.: Polarization, kinetochore movements and bivalent structure in the meiosis of male mantids. Biol. Bull. (Woods Hole) 85, 265-300 (1943).

INAMDAR, N.B.: A note on the reorientation within the spindle of the sex trivalent in a mantid. Biol. Bull. (Woods Hole) 97, 300-301 (1949).

INOUE, S.: Polarization optical studies of the mitotic spindle. I. The demonstration of spindle fibers in living cells. Chromosoma (Berl.) 5, 487-500 (1953).

- Motility of cilia and the mechanism of mitosis. Rev. mod. Phys. 31, 402-408 (1959).

- Organisation and function of the mitotic spindle. In: Primitive motile systems in cell biology. R. ALLAN, a. N. KAMIYA, edit., Academic Press. Inc. New York pp. 549-598 (1964).

-, a. A. BAJER: Birefringence in endosperm mitosis. Chromosoma (Berl.) 12, 48-63 (1961).

-, a. H. SATO: Cell motile by labile association of molecules. The nature of the mitotic spindle fibers and their role in chromosome movement. J. gen. Physiol. 50, Suppl. 259-292 (1967).

JOHN, B. a. K.R. LEWIS: Meiotic system. In: Protoplasmatologia Bd. VI/F1. Springer, Wien - New York (1965).

JONES, K.: Chromosomes and the nature and origin of Anthoxanthum odoratum L. Chromosoma (Berl.) 15, 248-274 (1964).

KEYL, H.G.: Chromosomenevolution bei Chironomus. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten. Chromosoma (Berl.) 13, 464-514 (1962).

LaCHANCE, L.E., J.G. KIEMANN, a. D.E. HOPKIN: A reciprocal translocation in Cochliomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae). Genetic and cytological evidence for preferential segregation in males. Genetics 49, 959-972 (1964).

LAWRENCE, C.W.: Genetic control of chromosome behaviour in rye. VI. Selection for disjunction frequency. Heredity 12, 127-131 (1958).

- The orientation of multiple associations resulting from interchange heterozygosity. Genetics 48, 347-350 (1963).

LENZ, W.: Anomalien der Autosomen unter besonderer Berücksichtigung des Schwachsinns. In: Humangenetik Bd. V/2, 340-430. Hsg. P.E. BECKER, Thieme, Stuttgart (1967).

MARQUARDT, H.: Das Verhalten röntgenstrahleninduzierter Viererringe mit großen interstitiellen Segmenten bei Oenothera hookeri. Z. Vererbl. 82, 415-429 (1948).

MATHER, K.: The measurement of linkage in heredity. Methuen, London - New York 2. edit. (1963).

- Statistical analysis in biology. Methuen, London 4. edit. (1966).

McCLINTOCK, B.: Neurospora. I. Preliminary observations of the chromosomes of Neurospora crassa. Amer. J. Bot. 32, 671-678 (1945).

NICKLAS, R.B.: Recurrent pol-to-pol movements of the sex chromosome during premetaphase I in Melanoplus differentialis spermatocytes. Chromosoma (Berl.) 12, 97-115 (1961).

- Chromosome micromanipulation. II. Induced reorientation and experimental control of segregation in meiosis. Chromosoma (Berl.) 21, 17-50 (1967).

-, a. C.A. KOCH: Persönliche Mitteilung.

ÖSTERGREN, G.: The mechanism of coorientation in bivalents and multivalents. Hereditas (Lund) 37, 85-156 (1951).

PATTERSON, J.T., a. W.S. STONE: Evolution in the genus Drosophila. McMillan, New York (1952).

PENROSE, L.S., J.R. ELLIS, J.D.A. DELHATY: Chromosomal translocations in mongolism and in normal relatives. Lancet 1960/II, 409-410.

PFEIFFER, R.A.: Karyotyp und Phänotyp der autosomalen Chromosomenaberrationen beim Menschen. Fischer, Stuttgart (1968).

POLANI, P.E., J.H. BRIGGS, C.D. FORD, C.M. CLARKE, a. J.M. BERG: A mongol girl with 46 chromosomes. Lancet 1960/I, 721-724.

RHOADES, M.M.: Preferential segregation in maize. In: Heterosis ed. by J.W. GOWEN. Ames: Iowa State College Press 1952 pp. 66-80.

RICKARDS, G.K.: Some theoretical aspects of selective segregation in interchange complexes. Chromosoma (Berl.) 15, 140-155 (1964).

SHIMAKURA, K.: The chromosome movements during the spindle formation as observed in the living spermatocytes of some grasshopper. Proc. Internat. Genet. Symp. (Tokyo-Kyoto), 126-128 (1957).

- Studies of the mechanisms of mitosis. Proc. Internat. Genet. Symp. (Tokyo-Kyoto), 229-231 (1957).

SYBENGA, J.: Orientation of interchange multiples in Secale. Heredity 23, 73-79 (1968).

TAKACS, L.: Stochastic processes. Methuen, London - New York (1962).

Tätigkeitsbericht der Max-Planck-Gesellschaft. In: Naturwissenschaften 53, s. 678 (1966).

THOMPSON, N.B.: Genotypic control of chromosome behaviour in rye. II. Disjunction at meiosis in interchange heterozygotes. Heredity 10, 99-108 (1956).

ULLERICH, F.-H., H. BAUER u. R. DIETZ: Geschlechtsbestimmung bei Tipuliden (Nematocera, Diptera). Chromosoma (Berl.) 15, 591-604 (1964).

VIRKKI, N.: Orientation and segregation of asynaptic multiple sex chromosomes in the male Omophoita clerica ERICHSON (Coleoptera, Alticidae). Hereditas 57, 275-288 (1967).

WHITE, M.J.D.: The evolution of sex chromosomes. I. The XO and X_1X_2Y mechanisms in praying mantids. J. Genet. 42, 143-172 (1941).

- Animal cytology and evolution. Cambridge University Press, Cambridge,2. edit. (1954).

Herrn Dr. R. Dietz danke ich für die Anregung, über die Chromosomenorientierungen in den Spermatocytenteilungen der Tipuliden zu arbeiten. Ihm und insbesondere Herrn Prof. Dr. H. Bauer danke ich für die Unterstützung und die Kritik bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 18. März 1936 wurde ich, Hartwig Rohloff, in Halberstadt geboren. Meine Eltern sind Karl Rohloff, Oberstudiendirektor, und Luise Rohloff, geb. Wiele.

Nach fünf Grundschuljahren (1942-1947) besuchte ich die Oberschule zunächst in Eichstätt und ab Januar 1950 in Wilhelmshaven, wo ich am 26. Februar 1957 die Reifeprüfung bestand.

Vom Sommersemester 1957 an studierte ich an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen Naturwissenschaften. Im Sommer 1964 habe ich begonnen, am Max-Planck-Institut für Zellbiologie (früher: Max-Planck-Institut für Meeresbiologie), Abteilung Prof. Dr. H. Bauer, über die Orientierung von quadrivalenten Chromosomen in den Spermatocytenteilungen der translokationsheterozygoten Tipuliden zu arbeiten.

Meine akademischen Lehrer waren im besonderen:
Prof. Dr. K.G. Grell, Prof. Dr. H. Mauser, Prof. Dr. V. Schwartz, Prof. Dr. W. Seyffert, Prof. Dr. Dr. G. Weitzel.

Druck: SOFORTDRUCK BRAUNSCHWEIG

Druck: SOFORTDRUCK BRAUNSCHWEIG